

CHROMATOGRAPHISCHE RACEMATTRENNUNGEN AN CELLULOSETRIACETAT

von
Rainer Hagel

aus
Lichtenfels

1976

1976 # 220



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546220_0033

CHROMATOGRAPHISCHE RACEMATRENNUNGEN AN CELLULOSETRIACETAT

Den Naturwissenschaftlichen Fachbereichen
der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg

zur

Erlangung des Doktorgrades



vorgelegt

von

Rainer Hagel

aus

Lichtenfels

Als Dissertation genehmigt von den Naturwissenschaft-
lichen Fachbereichen der Universität Erlangen-Nürnberg

Tag der mündlichen Prüfung: 6. April 1976



Vorsitzender der Promotionskommission:

Professor Dr. H. Remmert

Erstberichterstatter: Professor Dr. G. Hesse

Zweitberichterstatter: Professor Dr. H.J. Bestmann

Meinem hoch verehrten Lehrer, Herrn Professor Dr.
Gerhard Hesse, danke ich herzlichst für die inte-
ressante Themenstellung; sein Ideenreichtum prägte
die vorliegende Arbeit.

Meinen lieben Eltern und Freunden

Zusammenfassung:

Ein Polarimeter im Durchflußbetrieb erweist sich bei der flüssigchromatographischen Racematspaltung als wertvolle (und nahezu notwendige) Ergänzung zum üblichen UV-Detektor oder Refraktometer. In Gemischen können racemische Komponenten erkannt werden (Seite 28/I), bei unklaren Konzentrationschromatogrammen läßt sich die Anzahl der enthaltenen Racemate nur aus den α -Kurven ableiten (Seite 29/III); Voraussetzung ist natürlich eine genügende Trennwirkung des optisch aktiven Sorptionsmittel gegenüber Stoffklassen und Racematen.

Kristallines Cellulosetriacetat eignet sich hierfür hervorragend. Seine Darstellung erfolgt bequem und billig durch heterogene Acetylierung von Cellulose in Benzol/Eisessig/Acetanhydrid; die Kristallinität des Ausgangsproduktes bleibt dabei erhalten.

Wir fanden eine besondere Eigenschaft der nativen Cellulose: die Ausbildung "latenter, aktiver Zentren", die nach der Peracetylierung chromatographisch dominierend wirksam werden. Die Zerstörung der Zentren vor, während oder nach der Acetylierung bewirkt eine (z.T. enorme) Verringerung der Retentionsvolumina und der mittleren Anreicherungen an den nunmehr "amorphen" Sorbenzien.

Die Stufe des Triacetats ist die chromatographisch wirksamste; partiell acetylierte, kristalline Cellulosen zeigen nur in Ausnahmefällen bessere Trennungen, da die Wasserstoffbrücken zwischen den Ketten den Sorbatmolekeln den Weg ins Innere der Matrix teilweise versperren.

Aus den Chromatogrammen der Trögerschen Base an -Cellulose-triacetat- kann der Gehalt des Sorbens an kristallinen Anteilen abgeschätzt werden: im Falle kleiner Beimengungen aus den Drehwinkel-Dreifachkurven (zwei Nulldurchgänge), bei hohem Prozentsatz aus der Qualität der Trennung.

Die Stereospezifität kristalliner, teilacetylierter Cellulose für Träger-Base läßt Rückschlüsse auf die "Konzentration" der Acetylgruppen im Partikel-Querschnitt zu.

An amorphem Cellulosetriacetat werden alle Substanzen schnell eluiert, Racemate mittelmäßig aktiviert. Kristallines Triacetat zeigt stets höhere Retentionen und Anreicherungen. Phenyl-, Carbonyl- und Äthergruppen erweisen sich als sorptiv besonders wirksam, Hydroxyl- und Carboxylreste als retentionsfeindlich. Damit lassen sich gerade die Racemate chromatographisch aktivieren, die sich einer Spaltung über Diastereomere wegen des Fehlens geeigneter funktioneller Gruppen weitgehend entziehen.

An einer Säule mit 140g mikrokristallinem Cellulosetriacetat der Siebfraktion 90-56 μ , das in Äthanol 15min leicht aufgekocht wurde, (Betthöhe: 40cm bei einem Innendurchmesser von 3,1cm), werden in Äthanol als Fließmittel (Strömung: 300ml/h) folgende Aktivierungen erzielt (die Temperatur beträgt meist 20°C, bei Reihe 1.) T-Programm):

1.) Vollständige Enantiomerentrennungen bei einem Durchlauf (nach abnehmender Trennbarkeit geordnet):

1-Phenyl-1-o-anisyläthan, Trögersche Base, 2-Phenylcyclohexanon, 2,5-Dibromhydrochinon-decamethylenäther.

2.) Sehr gute Anreicherungen ($\geq 30\%$):

2-Phenylcycloheptanon (in Isopropanol fast Basistrennung), 2-Phenylnorbornen, 5-Phenylnorbornen, 2-Phenylnorbornan.

3.) Deutliche Aktivierungen (bis 30%):

2-Hydroxycarbonsäuren, Mandelsäureester, Alkylcycloalkanone und -alkene, o/m/p-1-Phenyl-1-anisyläthanol, m/p-1-Phenyl-1-anisyläthane, sec.-Butylbenzol, 2-Cyclohexylnorbornan.

Durch Variation der wichtigsten Parameter der Säulenchromatographie (Korngröße, Eluens, Temperatur, Strömungsgeschwindigkeit) wurden Richtlinien für die optimale Lösung eines Trennproblems ermittelt.

Der Mechanismus der Sorption in den aktiven Zentren der kristallinen Triacetylcellulose konnte aus dem Retentionsverhalten aromatischer Nichtracemate abgeleitet werden.

Auffällig ist die große "Affinität" für unsubstituiertes Benzol; der Phenylrest bildet bei der Sorption von Aromaten an kristallinem Triacetat stets den "Hauptanker". Alle geprüften ortho-Isomeren werden wesentlich stärker reteniert als die meta- und para-Analogen; sie lassen sich z.T. präparativ abtrennen.

Kristallines Cellulosetriacetat ist ein zur Trennung von Enantiomeren oder Nichtracematen hervorragend geeignetes, leicht darstellbares und nicht alterndes Sorptionsmittel.

Inhaltsverzeichnis:

	Seite
1. Einleitung.....	1
1.1. Die optische Aktivität.....	1
1.2. Die Spaltung von Racemformen.....	7
1.2.1. Gängige Methoden.....	7
1.2.2. Die chromatographische Racematspaltung	9
2. Hauptteil.....	20
2.1. Die Chromatographie an optisch aktiven Sorbenzien.....	20
2.1.1. Angaben zur Trennsäule.....	20
2.1.2. Chromatogrammtypen.....	22
2.1.3. Die mittlere Anreicherung.....	30
2.1.4. Das Totvolumen.....	33
2.2. Das Sorptionsmittel Cellulosetriacetat	35
2.2.1. Die Cellulose.....	35
2.2.2. Die heterogene Peracetylierung der Cellulose.....	37
2.2.2.1. Vorschrift und Ablauf.....	37
2.2.2.2. Die Kristallinität der verwendeten Cellulose.....	39
2.2.2.3. Die Bedeutung des Acetylierungsgrades.	45

2.2.3.	Die Optimierung des Rohproduktes.....	52
2.2.3.1.	Die Korngröße.....	52
2.2.3.2.	Das Quellen.....	56
2.2.3.3.	Das Lösen der kristallinen Acetylcellulose.....	68
2.2.3.3.1.	Dreifachkurven.....	68
2.2.3.3.2.	Vergleich einiger Eigenschaften von kristallinem und amorphem Cellulose-triacetat.....	80
2.2.3.3.3.	Aktivierungen und Retentionen an kristallinem und amorphem Cellulose-triacetat.....	85
2.2.4.	Die Optimierung von Racematspaltungen an kristallinem Cellulose-triacetat....	102
2.2.4.1.	Lösungsmittelvariation.....	102
2.2.4.2.	Belastung, Strömung und Temperatur....	115
2.3.	Struktur und Aktivierbarkeit.....	121
2.3.1.	Racemate mit asymmetrischen Kohlenstoffatomen.....	121
2.3.1.1.	Offenkettige Verbindungen.....	121
2.3.1.2.	Ringverbindungen.....	126
2.3.2.	Die Trögersche Base.....	132
2.3.3.	Ansaverbindungen.....	132
3.	Experimenteller Teil.....	136
3.1.	Die Darstellung der Sorbenzien.....	136
3.2.	Das Säulenfüllen.....	137
3.3.	Der Versuchsaufbau.....	139
4.	Literaturverzeichnis.....	141
5.	Symbolverzeichnis.....	145

1. Einleitung

1.1. Die optische Aktivität

Die optische Aktivität ist ein Naturphänomen in der Lithosphäre und besonders in der Biosphäre der Erde.

Der Metabolismus aller Lebewesen läuft unter Beteiligung chiraler Verbindungen ab; Cellulose, der häufigste organische Stoff in der Natur, besteht aus D-Glucose; Eiweiß baut sich vor allem aus L-Aminosäuren auf, das Chitin der Pilze und Insekten aus N-Acetyl-D-glucosamin. Ob die ersten Lebewesen aus bereits optisch aktiven Vorstufen entstanden sind oder ob sich erst im Laufe der Evolution die optische Aktivität der Körpersubstanzen durchgesetzt hat, ist nicht sicher zu entscheiden ^{1,2)}.

Die Erforschung der optischen Aktivität begann im 19. Jahrhundert ³⁾. Der Physiker Malus entdeckte 1808 die lineare Polarisation des ordentlichen und außerordentlichen Strahles, in die ein Lichtbündel nach dem Durchlaufen doppelbrechender Kristalle aufgespalten ist. Der Effekt der Doppelbrechung durch Kristalle des hexagonalen Systems (z.B. Kalkspat) wurde allerdings schon 1690 von Huygens beobachtet.

In einem von glühenden festen oder flüssigen Körpern ausgesandten Lichtbündel wird vom elektrischen und magnetischen Vektor keine Schwingungsebene bevorzugt, da in den Temperaturstrahlern die ungeordneten Atome völlig unabhängig voneinander emittieren. Ein Lichtstrahl wird dann als polarisiert bezeichnet, wenn der elektrische Vektor der Welle eine bestimmte Orientierung zur Fortpflanzungsrichtung besitzt.

In linear polarisiertem Licht schwingt er in einer Ebene durch die Richtung des Lichtbündels; bei zirkularer Polarisation führt er eine Schraubenbewegung aus. Zwei entgegengesetzt zirkular polarisierte Wellen mit gleichen Amplituden geben als Resultante eine linear polarisierte Lichtwelle ⁴⁾.

Nicol verfeinerte die Methode von Malus durch Zusammenkitten zweier besonders geschnittener Kalkspatstücke:

nur der weniger gebrochene außerordentliche Strahl kann die Kittschicht passieren, der ordentliche Strahl wird totalreflektiert. Dieses Prisma diente lange Zeit zur Erzeugung linear polarisierten Lichtes in Geräten zur quantitativen Registrierung der optischen Aktivität (Polarimeter). Billiger und handlicher sind Polarisationsfilter aus Folien mit eingelagerten dichroitischen Kristallen, die den ordentlichen und außerordentlichen Strahl verschieden stark absorbieren ⁵⁾.

Biot entdeckte 1813, daß die Schwingungsebene von linear polarisiertem Licht beim Durchlaufen von Quarz oder von flüssigen und gelösten organischen Verbindungen um einen der Schichtdicke proportionalen Betrag gedreht wird. Quarz zeigt nur als Kristall ein Drehvermögen (temporäre optische Aktivität). Die organischen Verbindungen dagegen behalten ihre Aktivität auch nach dem Schmelzen, Auflösen oder Verdampfen (permanente optische Aktivität); die Ursache dafür muß in den einzelnen Molekülen zu suchen sein. 1860 übertrug Pasteur die Erkenntnisse der Kristallographie auf organische Moleküle: die Voraussetzung für die optische Aktivität ist eine asymmetrische Anordnung der Atome. Antipoden verhalten sich wie Bild und Spiegelbild; sie drehen die Ebene des polarisierten Lichtes um den gleichen Betrag, doch in entgegengesetzter Richtung.

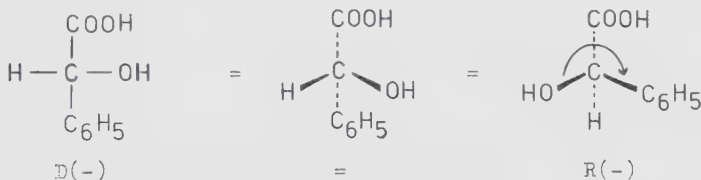
Le Bel und van't Hoff erkannten 1874 unabhängig voneinander, daß alle bis dahin bekannten optisch aktiven Verbindungen mindestens ein mit vier verschiedenen Gruppen verbundenes Kohlenstoffatom (asymmetrisches C) enthalten.

Die Substituenten dürfen nicht in einer Ebene liegen, sondern sie müssen in den Ecken eines Tetraeders lokalisiert sein, dessen Mittelpunkt das asymmetrische Kohlenstoffatom ist. Damit prägte van't Hoff das gültige Kohlenstoff-Tetraedermodell. Nur bei Verschiedenheit aller vier Liganden unterscheidet sich ein Molekül von seinem enantiomorphen Spiegelbild.

Zur zweidimensionalen Darstellung der Tetraedermoleküle schlug Emil Fischer den Gebrauch bestimmter Projektionsformeln vor ⁶⁾.

Das asymmetrische C-Atom liegt in der Papierebene, die horizontalen Gruppen befinden sich davor, die vertikalen dahinter. Durch einmaliges Vertauschen zweier Substituenten erhält man das spiegelbildliche, durch doppeltes Vertauschen wieder das ursprüngliche Molekül.

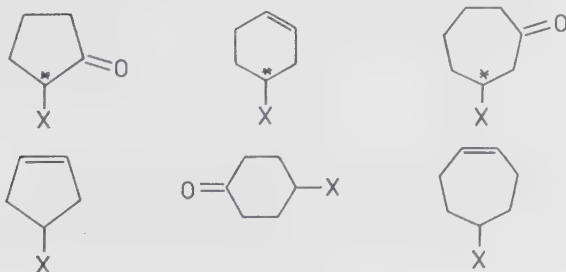
Nach der neueren R,S-Konfigurationssymbolik werden die Gruppen nach Sequenzregeln geordnet (z.B. abnehmende Ordnungszahl, Substitutionsgrad) ⁷⁾. Entspricht die Rangfolge einer Drehung im Uhrzeigersinn, erhält das Molekül das Konfigurationssymbol R; bei Verlauf der Rangfolge nach links das Symbol S.



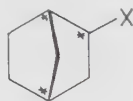
Mandelsäure

Die Moleküle von monosubstituierten cyclischen Aliphaten besitzen noch eine Spiegelebene. Durch Einführen einer Carbonylgruppe oder Doppelbindung wird in manchen Fällen das Kohlenstoffatom des Substituenten X asymmetrisch (Reihe 1).

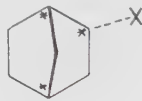
Die Moleküle von Reihe 2 sind weiterhin symmetrisch.



Bicyclo(2,2,1)heptan (Norbornan) wird schon nach einfacher Substitution racemisch. Dabei sind allerdings noch im Verhältnis der Diastereoisomerie zueinander stehende exo-endo-Isomere möglich.



exo



endo

Durch einfaches Vertauschen zweier Substituenten erhält man hier nicht das Enantiomere, sondern wie bei Zuckern ein Epimeres, da im Gerüst selbst schon zwei asymmetrische C-Atome vorhanden sind.

In der vorliegenden Arbeit wurden einige alicyclische Verbindungen auf Spaltbarkeit untersucht.

Dissymmetrische organische Moleküle ohne asymmetrische Atome sind bei besonders substituierten Styrolen, Allenen, Spiranen, Alkylidencycloalkanen, Diarylen, Helicenen, Paracyclophanen und Ansaverbindungen zu finden ⁸⁾.

Allen ist das Fehlen von Symmetrieelementen 2. Art (Drehspiegelachsen und Spiegelebenen) gemeinsam; Drehachsen sind jedoch erlaubt und zum Teil auch vorhanden.

Symmetrische organische Verbindungen wie Benzil können jedoch im kristallinen Zustand temporäre optische Aktivität zeigen, die vor allem bei anorganischen Stoffen (z.B. Quarz, Zinnober, Natriumchlorat) auftritt. Die Kristalle besitzen hemiedrische Flächen und lassen sich nur durch Spiegelung zur Deckung bringen. In Lösung sind diese Verbindungen natürlich inaktiv.

Das Hauptmerkmal einer optisch aktiven Substanz ist ihre zirkuläre Doppelbrechung: die Brechungsindizes für rechts und links zirkular polarisiertes Licht sind in dissymmetrischen Medien verschieden. Damit unterscheiden sich die

Ausbreitungsgeschwindigkeiten der beiden Zirkular-Teilwellen, aus denen linear polarisiertes Licht zusammengesetzt ist, d.h., eine Welle wird gebremst. Die Vektoraddition führt zwar wiederum zu linear polarisiertem Licht, doch ist dessen Schwingungsebene gegenüber der des einfallenden Bündels verdreht. Zusätzlich tritt in geringem Maße Zirkulardichroismus auf; die beiden Zirkularwellen werden verschieden stark absorbiert. Dadurch wird eine Vektoramplitude verkürzt; als Resultierende entsteht eine Ellipse mit hoher Exzentrizität ⁹⁾.

Die gemessene Drehung der Schwingungsebene ist abhängig von der Probe selbst, ihrer Konzentration, der Schichtdicke l (Länge der Küvette), dem Lösungsmittel, der Temperatur und der Wellenlänge:

$$[\alpha]_{\lambda}^T = \frac{100 \cdot \alpha}{c \cdot l} \quad \begin{array}{l} \text{Lösungsmittel;} \\ c \text{ in g/100ml, } l \text{ in dm} \end{array}$$

Die berechnete spezifische Drehung $[\alpha]_{\lambda}^T$ ist bei Angabe aller Variablen für eine optisch aktive Substanz charakteristisch. Zwischen Konzentration c und Drehwert α besteht nur in erster Näherung ein linearer Zusammenhang. Zunehmende Temperatur verringert im allgemeinen die spez. Drehung, Lösungsmittel beeinflussen stark ihre Größe. Eine Umkehr des Drehsinns bei Lösungsmittelwechsel ist aber selten. Ein Beispiel stellt die 2-Chlor-2-phenylpropionsäure dar, die in Benzol rechtsdrehend, in Äther aber linksdrehend ist. In unpolaren Lösungsmitteln assoziieren die Säuremoleküle untereinander, während in sauerstoffhaltigen eine starke H-Brücken-Bindung zwischen dem Säureproton und dem Lösungsmittelsauerstoff anzunehmen ist ¹⁰⁾.

Ähnliche Effekte sind für die von uns beobachtete Drehsinnumkehr durch Elutionsmittelvariation bei der chromatographischen Racematspaltung der 2-Hydroxycarbonsäuren Mandel- und Atrolactinsäure verantwortlich.

Durch Mischen der beiden enantiomeren Formen einer Verbindung in gleichem Verhältnis entsteht ein optisch inaktives Racemat, das in Siedepunkt, Dichte, Brechungsindex und IR-Spektrum (nur im flüssigen oder gelösten Zustand) mit den Antipoden übereinstimmt. Starke Abweichungen werden allerdings im festen, kristallinen Zustand beobachtet, die die Einteilung der Racemate in drei Gruppen erlauben ¹¹⁾.

1.) Racemische Gemische

Hier sind die Kräfte zwischen gleichsinnig drehenden Molekülen größer als die zwischen (+)- und (-)-Molekeln. Das Racemat ist eine Mischung aus Kristallen der reinen Enantiomeren (Konglomerat). Die IR-Spektren der Antipoden sind daher mit dem des Racemates identisch; sein Schmelzpunkt liegt allerdings tiefer (Eutektikum).

2.) Racemische Verbindungen

Bei diesem häufigen Fall besteht schon eine Elementarzelle des Kristalls aus einem (+)/(-)-Enantiomerenpaar. Diese 1:1-Molekülverbindung besitzt ein anderes IR-Spektrum, einen anderen Schmelzpunkt (größer, kleiner oder gleich) und andere Löslichkeiten als die Antipoden.

3.) Racemformen mit Mischkristallnatur

Hier liegen feste Lösungen in Gestalt racemischer Mischkristalle vor. Die verschiedenen Kräfte zwischen den Enantiomeren ((+)-(-), (+)-(+), (-)-(-)) unterscheiden sich kaum. Das Racemat stimmt in allen Eigenschaften ungefähr mit den Antipoden überein.

Die beiden enantiomeren Formen einer Verbindung unterscheiden sich nur im Vorzeichen der spezifischen Drehung, aber nicht in ihrem Absolutwert. Alle anderen physikalischen Daten sind identisch. Die physiologischen Wirkungen sind allerdings zum Teil enorm verschieden.

Viele Aminosäure-Antipoden differieren im Geschmack ¹²⁾

((+)-Phenylalanin schmeckt süß, das (-)-Enantiomere bitter), bei Giften und Analgetica wirkt eine Form meist viel schwächer ¹³⁾. Die Darstellung reiner Enantiomerer hat für Chemie, Pharmazie und Medizin große Bedeutung.

1.2. Die Spaltung von Racemformen

1.2.1. Gängige Methoden

Neben der später ausführlich besprochenen chromatographischen Methode sind folgende Trennverfahren möglich ¹⁴⁾:

1.) mechanisches Auslesen

Wenn beim Eindunsten racemischer Gemische genügend große Kristalle anfallen, können die Antipoden durch Sortieren der identischen Partikel getrennt werden. Dieser Fall ist jedoch recht selten; ein berühmtes Beispiel ist die Trennung von Natriumammoniumtartrat durch Louis Pasteur.

2.) kinetische und biochemische Verfahren

3.) Racematspaltung über Diastereomere

Bei der Umsetzung eines Racemates (+/-)E mit einem optisch aktiven Hilfsreagenz (+)H entstehen die Verbindungen (+)E.(+)H und (-)E.(+)H, die sich nicht wie Bild und Spiegelbild verhalten und daher verschiedene physikalische Eigenschaften besitzen. Diese Diastereomeren lassen sich durch Destillation, Kristallisation oder Chromatographie (an optisch inaktiven Adsorptionsmitteln oder Phasen) trennen. Die Paare (+)E.(+)H und (-)E.(-)H oder (+)E.(-)H und (-)E.(+)H dagegen sind enantiomorph.

Nach der Trennung der Diastereomeren werden durch Zerlegen die Antipoden (+)E und (-)E freigesetzt. Dabei kann jedoch Racemisierung eintreten. Die richtige Wahl des Hilfsreagenzes und des Lösungsmittels (oft werden auch Gemische verwendet) ist eine experimentelle Kunst.

In der Praxis werden Säuren und Alkohole (diese über ihre sauren Phthalester) mit Alkaloiden wie Brucin, Strychnin, Ephedrin, Chinin oder Morphin, racemische Basen mit Säuren wie Weinsäure, Dibenzoylweinsäure, Äpfelsäure oder Camphersulfonsäure umgesetzt. Die durch Kristallisation getrennten diastereomeren Salze werden durch Säuren bzw. Basen wieder zerlegt.

Werden die Enantiomeren einer Verbindung ohne günstige funktionelle Gruppen (Äther, Halogen- und Schwefelverbindung, Kohlenwasserstoff u.s.w.) benötigt, so muß versucht werden, ob eine Vorstufe im Syntheseweg über Diastereomere zu trennen ist oder ob eine weitere Methode der Racematspaltung Erfolg bringt.

4.) Racematspaltung über Molekülverbindungen

Die trennbaren Diastereomere brauchen nicht unbedingt Salzstruktur zu besitzen, auch Molekülverbindungen (Komplexe) sind geeignet. So lassen sich racemische Olefine über die Komplexverbindung $PtCl_2 \cdot \text{Olefin} \cdot (+)\text{-1-Benzyläthylamin}$, aromatische Stoffe manchmal durch Umsetzen mit $(-)\text{-2-(2,4,5,7-Tetranitro-fluorenylidenaminoxyl)-propionsäure}$ (Newman-Reagenz) spalten ^{15,16}).

Tetraacetyl-D-glucose bildet nur mit D-(+)-Phenyläthylamin eine kristalline Additionsverbindung; das andere Enantiomere bleibt in Lösung ¹⁷).

Die Bildung von Einschußverbindungen kann ebenfalls zur Aktivierung von Racematen führen. Harnstoff bildet in Gegenwart hydrophober Partner (z.B. 2-Chloroctan) durch Verknüpfen seiner Moleküle über H-Brücken eine Rechts- oder Links-schraube um die eingeschlossenen Gastmoleküle. Nach dem Aninofen mit einem Enantiomerenkristall können sich Clathratkristalle abscheiden, die diesen Antinoden bevorzugt einschließen. Dabei sind einfache geometrische Bedingungen wichtiger als das Vorhandensein bestimmter funktioneller Gruppen.

Die partielle Racematspaltung durch Einschußverbindungen der optisch aktiven Cyclodextrine beruht ebenfalls nur auf der Größe und Konfiguration der Gastmoleküle. Cyclodextrine sind ringförmige Oligosaccharide der Maltosereihe ¹⁸).

Sie sind wasserlöslich, kristallisieren aber bei Anwesenheit von Partnermolekülen, die im Innern eingeschlossen werden, aus; bei racemischen Partnern wird eine teilweise Aktivierung (1 - 12 %) der Gastkomponente beobachtet ¹⁹).

Dabei werden bei verwandten chemischen Verbindungen die Antipoden der gleichen absoluten Konfiguration bevorzugt.

1.2.2. Die chromatographische Racematspaltung

Bei dieser Methode, die nicht mit der chromatographischen Trennung von Diastereomeren verwechselt werden darf, bilden sich aus dem Racemat (+/-)E und dem optisch aktiven Sorptionsmittel (-)Ads. erst während der Elution diastereomere Adsorpte (-)Ads.(+)E und (-)Ads.(-)E. Die Trennung der Enantiomeren erfolgt längs der Säule oder Dünnschichtplatte in einer Vielzahl von theoretischen Böden; die erzielten Anreicherungen sind daher, gleiche Wirksamkeit des Sorbens vorausgesetzt, bedeutend höher als bei einstufigen Trennprozessen wie den Rührversuchen Bradleys ²⁰⁾.

Die Chromatographie ist ein physikalisches Verfahren zur Stofftrennung. Eine bewegte Phase mit dem Substanzgemisch umströmt eine stationäre Hilfsphase; je nach Aggregatzustand der beiden Phasen werden folgende Fälle unterschieden:

stationäre Phase: L = flüssig S = fest

bewegte Phase: L = flüssig G = gasförmig

LGC		LLC	
SGC	Gaschrom.	SIC	Säulen-, Dünnschicht-, Papierchrom.

Die stationären Phasen werden nach Trennmechanismen geordnet: es gibt Adsorptionsmittel, belegte Träger (Verteilungschromatographie), Ionenaustauscher und Molekularsiebe.

Als Adsorptionsmittel finden Verwendung:

Magnesiumsilikat, Aluminiumoxid, Kieselgel, Magnesiumoxid, Calciumcarbonat, Zucker, Cellulose, Stärke u.v.a.

Für sie gilt folgende eluotrope Reihe:

n-Hexan, Cyclohexan, Tetrachlorkohlenstoff, Benzol, Chloroform, Diäthyläther, Essigester, Aceton, iso-Propanol, Äthanol, Methanol, Wasser, Formamid.

Die Trennung eines Stoffgemisches erfolgt nach der Polarität der Komponenten. Kohlenwasserstoffe wandern voraus, während polare Verbindungen über Dipol- oder H-Brücken-Bindungen verschieden stark retiniert werden.

Das Lösungsmittel konkurriert dabei mit den adsorbierten Proben: polare Flüssigkeiten eluieren schnell, unpolare kaum.

Bei der Verteilungschromatographie ist die stationäre Phase auf einem porösen, möglichst inerten Träger aufgebracht; die Trennung erfolgt durch unterschiedliche Verteilungsgleichgewichte der Komponenten.

In der Flüssigchromatographie findet die reine Verteilungschrom., im Gegensatz zur Gaschromatographie, kaum Anwendung.

Die Ionenaustausch-Chromatographie beruht auf der ionogenen Bindung von Kationen oder Anionen an Gegenionen der Polymerenmatrix. Eluiert wird durch Änderung des pH-Wertes, durch Verdrängersubstanzen oder Komplexbildner. Die Trennung erfolgt nach der Zahl der Ladungen, bei gleichwertigen Ionen nach deren Ladungsdichten.

Ein Trennprinzip, das funktionelle Gruppen oder Ladungen nicht berücksichtigt, sondern nach der Gestalt und Größe der Moleküle selektiert, liegt bei der Chromatographie an Gelen mit definierten Porenweiten vor. Moleküle, die eine bestimmte Größe überschreiten (Ausschlußgrenze), können nicht mehr ins Innere der Gelmatrix (vernetztes Polystyrol oder Polysaccharid) gelangen; sie wandern daher mit der Front. Moleküle unterhalb der Ausschlußgrenze dringen ins Gel ein. Die Trennung erfolgt dann nach den Molekulargewichten: kleine Moleküle sind im zeitlichen Mittel häufiger und tiefer im Gel zu finden als größere Moleküle; sie werden daher stärker reteniert.

Die Trennmechanismen der meisten Sorbenzien sind allerdings nicht scharf abzugrenzen. Bei der Papierchromatographie kann Cellulose H-Brücken ausbilden (z.B. bei der Trennung von racemischen Aminosäuren in die Antipoden ²¹), in organischen Laufmitteln verteilen sich die Proben zwischen Eluens und Wasser, das sich in den Kanälen des Papiers und in den Cellulosefasern befindet.

Der allgemeine Versuchsaufbau einer Säulenchromatographie ist schlicht.

Das Sorbens befindet sich in einem Glas- oder Metallrohr, das thermostatisiert werden kann. Es wird von der mobilen Phase durchströmt, die zur Erkennung von Konzentrationsänderungen durch einen Detektor mit Schreiber geleitet wird. Bei präparativen Säulen endet der Weg des Eluats in einem Fraktionssammler.

In der Flüssigchromatographie dienen UV-Detektoren und Refraktometer zur Registrierung der "Peaks", für Racemate und optisch aktive Proben empfiehlt sich zusätzlich ein Polarimeter.

Zur Charakterisierung der Güte einer Säule wurden folgende Größen eingeführt ²²⁾:

V_{dr} = Gesamtretentionsvolumen (Elutionsvolumen vom Dosieren bis zum Peakmaximum einer Substanz)

V_d = Totvolumen (Elutionsvolumen einer Inertsubstanz ohne Retention)

$V_r = V_{dr} - V_d$ = Retentionsvolumen (charakteristisch für die Substanz)

$b_{1/2}$ = Peakbreite in halber Höhe

t_{dr} , t_d und t_r : den Retentionsvolumina analoge Retentionszeiten (im selben Maßstab wie $b_{1/2}$)

$B = (t_{dr}/b_{1/2})^2$ = Trennfaktor

$n = 5,54B^2$ = Trennstufenzahl (Zahl der theoretischen Trennstufen der Säule)

$n^1 = n/L$ = Trennleistung (L = Säulenlänge in Meter)

$HTS = 1000/n^1$ = Trennstufenhöhe in Millimeter

Zur Bestimmung der charakteristischen Retentionsvolumina ist die Kenntnis des Totvolumens, für die Berechnung von HTS die Kenntnis der Detektorlinearität wichtig.

Die Größe von HTS ist ein Maß für die Verbreiterung der Startzone beim Durchlaufen der Säule; sie wird durch die van Deemter-Gleichung beschrieben:

$$HTS = A + B/u + C \cdot u$$

u = Strömungsgeschwindigkeit des Eluens

A = strömungsunabhängige Konstante

B = Koeffizient der (axialen) Diffusion

C = Koeffizient der Stoffaustauschverzögerung

In der Flüssigchromatographie wird die Trennstufenhöhe beeinflusst vom Sorbens selbst, seiner Korngröße und seinem Quellzustand, vom Sorbat und seiner Dosierung, vom Lösungsmittel und seiner Strömung sowie von Temperatur und Belastung.

Die direkte Spaltung von Racematen ist ein Spezialgebiet der Chromatographie. Die Adsorpte (-)Ads.(+)E und (-)Ads.(-)E differieren als Diastereomere in ihrer Stabilität: unterschiedliche Sorptionsenthalpien verursachen unterschiedliche Retentionsvolumina. Während aber z.B. in der Gaschromatographie eine unvollständige Trennung von Nicht-racematen frühestens nach dem Auftreten von "Schultern" in einem Gesamtpeak sichtbar wird (GC-MS-Kopplungen ausgenommen), kann bei der chromatographischen Spaltung von Racematen durch die neue Meßgröße - optische Aktivität - schon eine sehr geringe Verschiebung (partielle Trennung) von Enantiomeren innerhalb eines symmetrischen Peaks erkannt werden. Die Nachweisgrenze wird von der spezifischen Drehung bestimmt. Erwünscht ist aber auch hier eine möglichst vollständige Trennung.

Die chromatographische Racematspaltung zeigt gegenüber anderen Methoden folgende Nachteile:

- 1.) Die Belastbarkeit der Säulen ist nicht sehr hoch (Cellulosetriacetat: max. 1g/100g Sorbens). Die Vergrößerung einer Säule ist jedoch kein Problem.
- 2.) Vollständige Trennungen sind selten; bei partiellen Spaltungen sind die ersten und letzten Anteile aber meist hoch aktiviert.

Die Vorteile der chromatographischen Methode sind vielfältig:

1.) Empfindliche Substanzen lassen sich über Diastereomere oft nicht spalten. Beim Zerlegen kann Racemisierung oder Zersetzung eintreten; so läßt sich die Trögersche Base nur chromatographisch in die Antipoden spalten ²³⁾.

Die chromatographische Methode ist die schonendste.

2.) Ein optisch aktives Sorptionsmittel kann nach einer Trennung stets neu verwendet werden. Bei der Spaltung über Diastereomere muß das Hilfsreagenz, falls es wertvoll ist, mühsam zurückgewonnen werden.

3.) Bei vollständigen Trennungen fallen beide Enantiomere in reiner Form an; bei partiellen Spaltungen enthalten beide Peakhälften etwa die gleiche Menge an Antipoden.

Die hoch aktivierten ersten und letzten Fraktionen sind oft zur Darstellung von reinen Enantiomerenkristallen geeignet (Impfkristalle; für Spektren oder Schmelzpunkte).

Bei der Diastereomerenmethode wird oft nur das Enantiomere in genügender Reinheit erhalten, das nach dem Versetzen mit dem Hilfsreagenz auskristallisiert.

4.) Unpolare Racemate können über Diastereomere nicht gespalten werden, während Cellulosetriacetat gerade für Verbindungen ohne funktionelle Gruppen besonders geeignet ist.

5.) Als Kriterium der optischen Reinheit eines auf irgendeine Art hergestellten Enantiomeren dient meist die Konstanz von Schmelzpunkt und spezifischer Drehung bei mehrmaligem Umkristallisieren. Diese Methode kann jedoch bei unreinen Proben mit Mischkristallnatur versagen, die nach dem Umkristallisieren oft in unveränderter Zusammensetzung erscheinen ²⁴⁾.

Chromatographiert man dagegen eine für rein gehaltene Substanz, so müssen alle Fraktionen des Peaks exakt die ursprüngliche spez. Drehung besitzen. War das Enantiomere mit Racemat verunreinigt, so werden die Fraktionen verschiedene spez. Drehungen zeigen. Voraussetzung ist allerdings, daß das Racemat am optisch aktiven Sorbens deutlich aktiviert wird.

6.) Die Wahl des richtigen Lösungsmittels und Hilfsreagenzes für die Trennung über Diastereomere erfordert viel Erfahrung und Zeit.

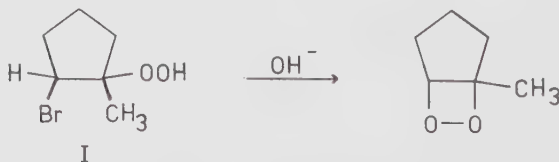
Die chromatographische Methode erlaubt bei geringem Aufwand die Herstellung aktivierter Proben, die in manchen Fällen gleiche Dienste leisten wie reine Enantiomere:

a) Wenn sich z.B. ein 1,2-Diphenylcyclopropan aktivieren läßt, stehen die Aromaten in trans-Stellung.

b) Die Bestimmung der Racemisierungsgeschwindigkeit erfordert kein reines Präparat, wenn die Anreicherung so groß ist, daß die Drehwertänderung mit genügender Genauigkeit verfolgt werden kann. Aus der Geschwindigkeitskonstante lassen sich die thermodynamischen Größen E_A , $\Delta G^\ddagger$, $\Delta H^\ddagger$ und $\Delta S^\ddagger$ berechnen.

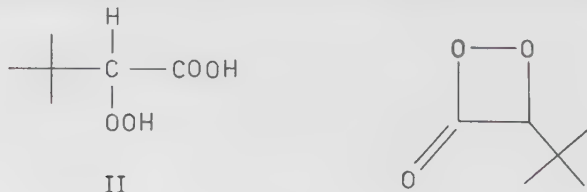
c) Partiiell gespaltene Racemate leisten große Dienste bei der Aufklärung von Reaktionsmechanismen.

Das chromatographisch an kristallinem Cellulosetriacetat aktivierbare Bromhydroperoxid I verliert beim Ringschluß die optische Aktivität ²⁵⁾:



Die Reaktion kann daher nicht (wie vermutet) über einen S_N2 -Schritt ablaufen; wahrscheinlich führt eine Favorski-Umlagerung zur Racemisierung.

Die ebenfalls aktivierbare Säure II läßt sich unter Erhalt der optischen Aktivität zum Dioxetan cyclisieren. Der Reaktionsmechanismus fordert hier den Erhalt der Konfiguration ²⁶⁾.



Die Anzahl der bisher durchgeführten, mehr oder weniger erfolgreichen Versuche zur chromatographischen Racematspaltung ist beträchtlich ²⁷⁾. Als Sorptionsmittel wurden teils natürlich vorkommende, teils synthetische optisch aktive Verbindungen eingesetzt.

An Wolle gelang Bradley ²⁰⁾ die Aktivierung von Mandelsäure und einigen ihrer Derivate; frühere Versuche ^{28,29)} scheiterten. Dalgliesh konnte papierchromatographisch manche Aminosäuren in die Antipoden zerlegen ²¹⁾; beim Übergang auf Säulenchromatographie sank die Wirksamkeit der Cellulose stark ab ³⁰⁾. Nur Verbindungen, die H-Brücken sprengen können, werden gut aktiviert: (+/-)-Catechin wurde nach einmaligem Durchlauf zu 75% angereichert. Als Laufmittel eignet sich nur Wasser, bei Äthanolzusatz sinkt die Ausbeute rasch ³¹⁾.

Von den Zuckern erwies sich (+)-Lactose als besonders wirksam. An ihr gelang die erste gesicherte chrom. Racematspaltung, die Trennung des p-Phenyl-bis-iminocamphers ³²⁾. Die berühmteste Anwendung war die Aktivierung der Trögerschen Base durch Prelog und Wieland ²³⁾. Trotz der geringen Anreicherung von 5% konnten durch fraktionierte Kristallisation reine Enantiomere dargestellt werden.

Die Tauglichkeit von Stärke wurde ausführlich von H. Krebs untersucht ^{33,34)}. Es gelang die Aktivierung von anorganischen Oktaederkomplexen, Mandelsäurederivaten, aliphatischen Dicarbox- und substituierten Aminosäuren. Das optimale Lösungsmittel für Stärke ist Wasser; geringe Alkohol- oder Acetonzusätze verringern die Ausbeuten.

Ein interessantes Adsorptionsmittel wurde von Dickey ³⁵⁾ auf Vorschlag Paulings durch Ausfällen von Kieselgel in Gegenwart einer Modellschubstanz dargestellt. Dabei bilden sich in der Oberfläche der Partikel Abdrücke der Modellmoleküle. Durch Bestimmen von Adsorptionsisothermen oder dünn-schichtchromatographisch ³⁶⁾ kann eine erhöhte Spezifität für die Modellverbindung nachgewiesen werden. Während Dickey Farbstoffe verwandte, fällten Curti und Colombo das Kieselgel in Gegenwart von (+)-Camphersulfonsäure aus ³⁷⁾.

Nach Durchlauf der racemischen Säure beobachteten sie zuerst eine deutliche (-)-Drehung. Das maßgeschneiderte Kieselgel adsorbiert also durch seine geprägte Oberfläche das Enantiomere bevorzugt, das beim Ausfällen zugegen war. Die Präparate altern allerdings sehr schnell.

Eigene Versuche, die Oberfläche von Acetylcellulose durch Füllen in Gegenwart von Farbstoffen zu prägen, scheiterten: in keinem Fall konnte eine erhöhte Retention der Modellschubstanz nachgewiesen werden.

Durch Belegen eines inerten Trägers mit optisch aktiven Verbindungen läßt sich ein Sorbens herstellen, dessen chirale Gruppen nur adsorptiv gebunden sind. Als Adsorbate wurden das Newman-Reagenz ³⁸⁾, Weinsäure ³⁹⁾, Zucker ³⁹⁾ und andere aktive Stoffe erfolgreich verwendet.

Die chiralen, die Racematspaltung bewirkenden Gruppen lassen sich auch durch eine chemische Bindung in einer Polymerenmatrix fixieren. Grubhofer und Schleith gelang als ersten die Aktivierung von Mandelsäure an einem mit Chinin veresterten Carbonsäure-Kunstharz ⁴⁰⁾. Gegenwärtig beschäftigt sich G. Blaschke mit der Racemattrennung an Polyacryl- und Polymethacrylamidgelen, die optisch aktive Reste wie 1-Phenyläthylamin chemisch gebunden enthalten ⁴¹⁾. Die vollständige Spaltung von Mandelamid, allerdings nur im Mikromaßstab, wurde beschrieben ⁴²⁾.

Die bisher beschriebenen Sorbenzien sind für die präparative Racemattrennung, die möglichst universell sein soll, wenig geeignet:

- 1.) In vielen Fällen lag die gemessene Drehung gerade über der Fehlergrenze.
- 2.) Eine Säulenfüllung muß beliebig oft benutzt werden können.
- 3.) Ein Sorptionsmittel soll leicht darstellbar und billig sein.
- 4.) Die verwendbaren Lösungsmittel müssen alle Polaritätsstufen umfassen, damit ein beliebiges Racemat überhaupt aufgegeben werden kann. Gleichzeitig soll die Ausbeute etwa gleich gut bleiben.

Das technische Cellulose-2,5-acetat, das von A. Lüttringhaus in die Chromatographie eingeführt wurde, erfüllt die Forderungen 2 - 4. Es aktiviert eine Reihe von Verbindungen, die keine zur Diastereomerenbildung geeigneten Gruppen tragen, z.B. die Ansaverbindung 1,5-Dihydroxynaphthalin-decamethylenäther ⁴³⁾, das überbrückte Diphenylderivat 4.5.6.7-Dibenzo-1,2-dithia-cyclooctadien ⁴⁴⁾ und die Trögersche Base ⁴⁵⁾.

Allerdings gelang auch an Cellulose-2,5-acetat keine vollständige Trennung eines Racemates in zwei separate Peaks.

Die Bedingungen, die ein Racemat erfüllen muß, um chromatographisch spaltbar zu sein, hängen von der Art des Sorbens ab.

Dalgliesh formulierte für die papierchromatographische Trennung der Aminosäuren eine "Dreipunktregel".

Die Aminosäuren müssen die unveränderten Carboxyl- und Aminogruppen sowie einen durch einen kleinen funktionellen Rest (-OH, -NO₂) orthosubstituierten Benzolkern besitzen ²¹⁾.

Dann erfolgt über H-Brücken eine stereospezifische Dreipunkt-Bindung.

Ausnahmen wurden, bei gleicher Methode, allerdings bald gefunden, z.B. die Trennung der 2,6-Diaminopimelinsäure ⁴⁶⁾.

Krebs präziserte die Anforderungen an das Sorbat bei der Chromatographie an Stärke ⁴⁷⁾:

- 1.) In der Nähe des asymmetrischen C-Atoms muß eine polare Gruppe vorhanden sein, durch welche die Adsorption an Stärke, wahrscheinlich über H-Brücken, erfolgen kann.
- 2.) Das asymmetrische C-Atom muß mit unterschiedlich großen, starren Gruppen verbunden sein (-C₆H₅, Cl u.a.), so daß sich seine Asymmetrie bei der Adsorption an Stärke bemerkbar macht.
- 3.) Sind die Bedingungen 1 und 2 nicht erfüllt, so kann sich die Asymmetrie einer Molekel bei der Adsorption auswirken, wenn die Molekel über mehrere polare Gruppen an das Adsorbens gebunden ist. Das ist aber der Inhalt der Dreipunktregel.

Sieht man die Gruppen von Punkt 2 jedoch als adsorptiv wirksam an, sind auch bei Verbindungen wie Phenylchloroessigsäure Dreipunktkontakte möglich. Alanin besitzt mit Sicherheit nur zwei Adsorptionsstellen, dennoch gelang die Aktivierung an Stärke, aber mit minimaler Ausbeute ⁴⁷⁾.

Nach Krebs sind gute Anreicherungen nur bei Dreipunktkontakten zu erwarten.

Lüttringhaus fand bei der chromatographischen Aktivierung von racemischen Hydroxyketonen diese Forderungen nur teilweise bestätigt. Einige Unstimmigkeiten wiesen bereits auf die Grenzen der Gültigkeit der Dreipunktregel für Acetylcellulose hin ⁴⁸⁾. Adsorptiv besonders wirksame Gruppen sind bei Cellulose-2,5-acetat: $-C_6H_5$, $=C=O$, $\equiv N$, $-OH$ und $-Cl$. Weniger wirksam sind: $-OR$ und $-S-S-$; lineare, verzweigte und cyclische aliphatische Gruppen sind unwirksam.

Da in der Praxis die Struktur der Racemate meist vorgegeben ist, wird man die Aktivierung durch Optimieren der Arbeitsbedingungen der Chromatographie an einem universellen Sorbens zu erhöhen versuchen.

Dabei sind folgende Variationsmöglichkeiten zu testen:

- 1.) Struktur, Darstellung, Korngrößenverteilung, Vorbehandlung und Einfüllmethode des Sorptionsmittels.
- 2.) Einfluß von Säulenlänge, Belastung, Strömung, Temperatur und Lösungsmittel.

In der Vielfalt der Sorbenzien erwies sich bisher das Cellulose-2,5-acetat als optimal. Es zeigte fast immer eine partielle Trennung der Racematproben, erlaubt die Verwendung vieler Lösungsmittel und ist als technisches Produkt nicht teuer. Ein entscheidender Nachteil ist jedoch die chemische Inhomogenität dieser Acetylcellulose. Die Acetylgruppen sind nur statistisch auf die Glucoseeinheiten verteilt (pro Einheit $C_6H_{10}O_5$ 2,5 Acetylreste); es liegen also Tri-, Di- und auch Monoacetat nebeneinander vor.

In den nieder acetylierten Einheiten sind dann noch primäre oder sekundäre Hydroxylgruppen frei.

Da technisches 2,5-Acetat aus einer Lösung ausgefällt wurde, sind die Kettenmoleküle nicht orientiert. Die Kristallstruktur der verwendeten Cellulose ging verloren.

Nur Acetylcellulose, die unter Erhalt der Faserstruktur hergestellt wird, zeigt ein gut ausgebildetes Röntgendiagramm, das auf einen kristallinen Aufbau schließen läßt ⁴⁹⁾.

Somit ergab sich die Themenstellung dieser Arbeit:

- 1.) Reproduzierbare Darstellung eines einheitlichen Cellulose-triacetates durch eine heterogene Acetylierungsreaktion (ein derartiges Präparat für chromatographische Zwecke war nicht auf dem Markt).
- 2.) Herstellung eines umgelösten (amorphen) Triacetats und Vergleich mit dem kristallinen Ausgangsprodukt.
- 3.) Ermitteln der günstigsten Vorbehandlung des Sorbens (z.B. Korngröße, Quellen).
- 4.) Erarbeiten von Richtlinien zur Optimierung einer beliebigen Trennung.
- 5.) Überprüfen der Gültigkeit der Dreipunktregel für kristallines und amorphes Cellulose-triacetat.
- 6.) Aussagen über die Bedeutung verschiedener Gruppen für die chromatographische Racematspaltung an Triacetylcellulose.

2. Hauptteil

2.1. Die Chromatographie an optisch aktiven Sorbenzien

2.1.1. Angaben zur Trennsäule

Eine Trennsäule wird durch folgende Angaben charakterisiert:

1.) Maße des Rohres und der Füllung

Da die Trennwirkung einer Säule mit der Länge zunimmt, ist die Angabe der "Betthöhe" unbedingt erforderlich. Die einfüllbare Menge an Sorptionsmittel wird dann von der lichten Weite ϕ_1 bestimmt. Säulen von mehr als einem Meter Länge sind bei präparativer Arbeitsweise sehr unhandlich, dennoch wurde in Sonderfällen an 7m-Säulen chromatographiert ⁴⁸⁾. Unsere Standardsäule hatte die Maße 43cm x 3,1cm, vereinzelt wurde ein Rohr mit 43cm x 2,2cm verwendet.

2.) Das Sorptionsmittel

Neben der chemischen Struktur ist auch noch die Darstellungsmethode anzugeben. Die Bezeichnung -Acetylcellulose- z.B. wäre unzureichend, da es Celluloseacetate mit einem Acetylwert von größer Null bis 45% gibt. Ein Celluloseetriacetat kann durch eine homogene oder heterogene Acetylierungsreaktion hergestellt sein, ein heterogen dargestelltes Acetat kann nachträglich umgefällt werden. Partiiell acetylierte Cellulosen sind durch vorzeitigen Abbruch der Acetylierung oder durch teilweises Verseifen von Triacetat zugänglich. Gegenüber der Trögerschen Base zeigen die einzelnen Präparate ein deutlich verschiedenes Verhalten.

3.) Die Korngrößenverteilung

Eine ideale Packung besitzt ein minimales Totvolumen, wodurch Diffusion vermieden wird. Nur kleinste Teilchen (unter 10 μm) lassen sich sehr dicht packen, auf Kosten der Fließgeschwindigkeit des Elutionsmittels. Ihre Verwendbarkeit ist daher auf die Hochdruckflüssigchromatographie beschränkt. Bei größeren Partikeln wäre eine einheitliche Korngröße ideal, doch läßt sich z.B. eine Charge mit 75 μm nur unter hohen Verlusten darstellen. Daher wählt man ei-

nen bestimmten Korngrößenbereich, der möglichst eng zu halten ist, z.B. die Siebfraction 71 - 56 μ .

Die Angabe der Korngrößen ist für den Vergleich der Wirksamkeiten von verschiedenen Sorbenzien unerlässlich, da die Höhe der Aktivierung eines Racemates stark von den Partikelgrößen abhängt. Bei größeren Bereichen (z.B. 400 - 50 μ) ist zusätzlich die Verteilung der Teilchen auf engere Siebfractionen anzugeben.

4.) Quell- und Einfüllmethode

Da der Quellzustand des Sorptionsmittels Einfluß auf die erzielte Anreicherung hat, ist die Quellmethode zu beschreiben. Falls in der vorliegenden Arbeit eine Versuchslegende keine besonderen Angaben zu diesem Punkt enthält, wurde wie folgt verfahren:

Das Celluloseacetat wird in Äthanol 15 min bei 80° (Wasserbad) gequollen, die Suspension (150g Sorbens, Gesamtvolumen ca. 350ml) nach dem Abkühlen an der Wasserstrahlpumpe kurz entgast und in einem Zug in die Säule eingegossen.

5.) Die Arbeitsbedingungen

Eine Legende muß Angaben über Lösungsmittel, Strömung, Temperatur und Belastung enthalten.

Eine chromatographische Trennung ist mit folgenden Angaben reproduzierbar beschrieben:

Versuch:

140g mikrokristallines Triacetat, 71 - 56 μ , L = 40cm, ϕ_1 = 3,1cm, Äthanol (15min 80°), 250mg Mandelsäure in 3ml, 20°C, 100ml/h.

2.1.2. Chromatogrammtypen

Ein Detektor ist ein Hilfsinstrument der Chromatographie, das Veränderungen im Eluat registriert. Während in der Gaschromatographie viele spezielle Detektortypen verwendbar sind, stehen der Flüssigchromatographie hauptsächlich zwei Instrumente zur Verfügung:

Ein UV-Detektor spricht auf Substanzen an, die Lichtabsorption bei der oft einstellbaren Wellenlänge zeigen, ein Refraktometer erkennt den Durchbruch des Sorbats an der Änderung des Brechungsindex des Eluats.

Ein Polarimeter eignet sich vorzüglich als Durchflußdetektor bei der Chromatographie von Racematen oder optisch aktiven Verbindungen. Dennoch kommt die Säulenchromatographie ohne Detektoren aus.

Der Durchbruch der aufgegebenen Substanz kann durch Schlierenbildung oder Tüpfelproben bestimmt werden. Bei der chromatographischen Racematspaltung wird der Peak dann in kleine Fraktionen unterteilt, die eingedunstet und gemessen werden. Die Wahl der Größe der Fraktionen ist willkürlich; die Vergleichsmöglichkeiten mit anderen Trennungen sind begrenzt.

Durch kontinuierliche Registrierung der Konzentrations- und Drehwinkeländerungen des Eluats erhält man Chromatogramme, die ein reproduzierbares Abfangen der Fraktionen erlauben. Zudem lassen die Drehwinkelkurven Feinheiten einer Trennung erkennen, die anderen Experimentatoren entgehen mußten.

An optisch aktiven Sorbenzien resultieren (eine ausreichende Trennwirkung vorausgesetzt) je nach Art der chromatographierten Proben folgende Chromatogrammtypen:

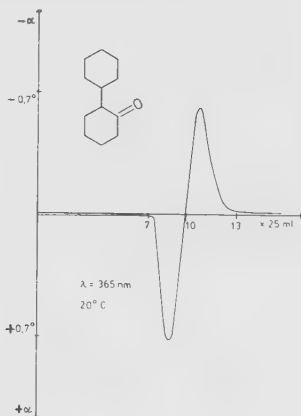
1.) Racemate oder aktive Verbindungen, chemisch einheitlich
a) Das Drehwinkelchromatogramm zeigt Ausschläge in beide Richtungen (nach (+) und (-)), die Flächen der beiden Halbwellen sind gleich groß.

Zusätzlich kann ein UV-Signal möglich sein.

Es liegt ein Racemat vor, das teilweise oder vollständig gespalten wird.

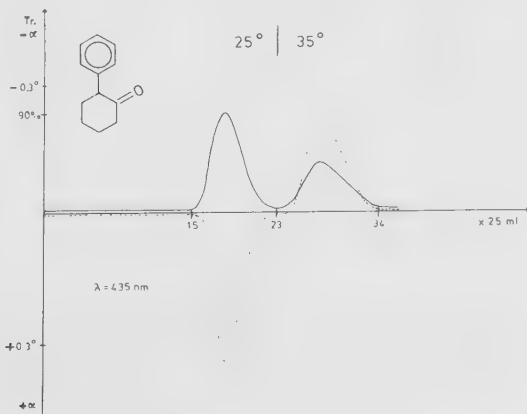
Versuch I:

140g mikrokristallines Cellulosetriacetat, 90-56 μ , L = 40cm, $\phi_1 = 3,1$ cm, Äthanol, 250mg 2-Cyclohexylcyclohexanon in 3ml, 20°C, 300ml/h. UV: kein Signal bei 254nm; die abgebildete Kurve zeigt das Drehwinkelchromatogramm (in der vorliegenden Arbeit sind die unteren Wellen stets rechtsdrehend).



Versuch II:

Säule wie bei I, doch 250mg 2-Phenylcyclohexanon in 3ml, 25-35°C, 300ml/h. UV: 2 Peaks; Drehwinkelkurve gestrichelt.



Trotz der größeren Drehwinkel bei Versuch I ist die Trennung schlechter als bei Versuch II. Das Drehwinkelchromatogramm

des 2-Cyclohexylcyclohexanons zeigt keine zwei separate Peaks wie bei 2-Phenylcyclohexanon, sondern einen steilen Nulldurchgang.

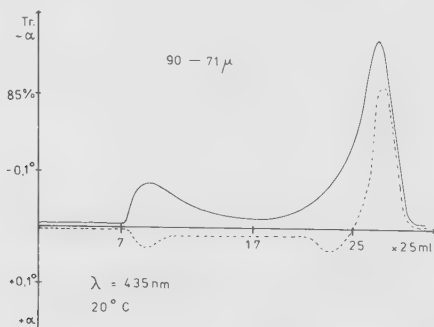
b) Eine Halbwelle erscheint kleiner.

1.) Die Probe war schon vor der Chromatographie teilweise aktiviert. Ob überhaupt eine zweite Welle beobachtet wird, hängt von der Güte der Trennung und der Anreicherung der Probe ab. Bei vollständigen Trennungen treten stets zwei Drehwinkelsignale auf, unabhängig von dem Aktivierungsgrad der Substanz. Bei partiellen Trennungen erscheint die zweite Halbwelle nur, wenn die Anreicherungen der Proben unter denen der einzelnen Halbwellen bei der Chromatographie der entsprechenden Racemate liegen (siehe 1.c/2).

2.) Bei zu groben Partikeln kann eine Welle augenscheinlich kleiner ausfallen, vor allem bei der Chromatographie von Mandelsäure in wäßrigem Äthanol.

Versuch:

150g kristallines Cellulosetriacetat, $90-71\mu$, $L = 40\text{cm}$, $\phi_i = 3,1\text{cm}$, Äthanol:Wasser = 1:2, 250mg Mandelsäure in 3ml, 20°C , 50ml/h. Tr. bedeutet -Transmission- (in %).



Dieser Fall ist von Typ b/1 zu unterscheiden:

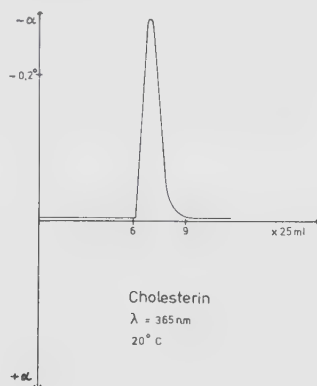
Die erste Drehwinkelwelle erscheint nur kleiner, obwohl ein Racemat chromatographiert wurde. Dies ist ein Säulenfehler bei zu großen Teilchen.

c) Drehwinkelausschlag in nur eine Richtung

1.) Es liegt ein reines Enantiomeres vor; das Konzentrationsmaximum muß exakt mit dem Drehwinkelmaximum zusammenfallen.

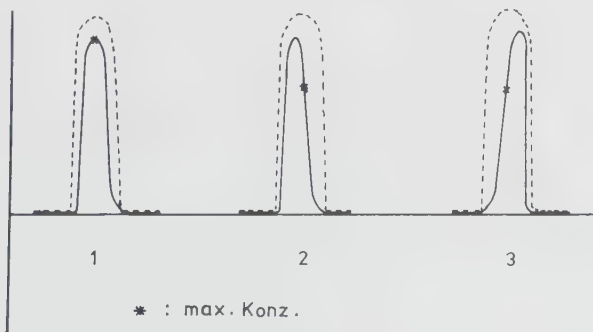
Versuch:

Säule wie Seite 23 1.a/I, 5ml gesättigte Cholesterinlösung (Äthanol). UV: kein Signal.



2.) Es liegen aktivierte Proben vor.

Trennt man den Peak von Versuch Seite 23 1.a/I genau im Drehwinkel-Nulldurchgang in zwei Fraktionen und chromatographiert die wiedergewonnene Substanz erneut, so entfällt (bei sonst gleichen Arbeitsbedingungen) die andere Halbwelle. Das Vorliegen eines nur partiell aktivierten Präparates wird beim Vergleich von Konzentrations- und Drehwinkelchromatogramm erkenntlich:



In der Skizze sind die Konzentrationssignale gestrichelt gezeichnet, da sie bei nichtabsorbierenden Stoffen entfallen (UV-Detektor).

Typ -1- stellt die Chromatographie eines reinen Enantiomeren oder eines hoch aktivierten Produktes dar. Bei schlechten Trennungen ist im letzten Fall eine geringe Verschiebung der beiden Maxima nicht zu erkennen (z.B. bei Mandelsäure in Äthanol ab ca. 10% Anreicherung).

Durch Unterteilen des Peaks in mehrere Fraktionen kann festgestellt werden, ob ein reines oder nur aktiviertes Produkt vorliegt (siehe S.13/5).

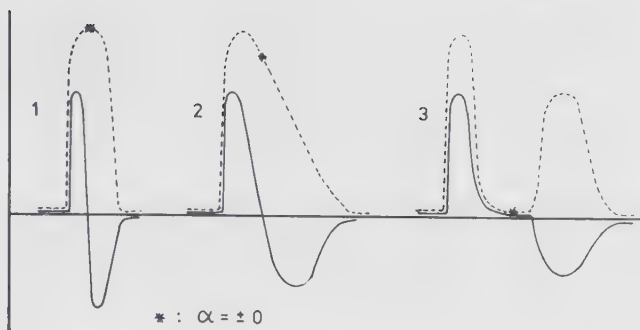
Typ -2- und -3- zeigen den zweiten Durchlauf der partiell gespaltenen Substanz in einer Halbwelle an derselben Säule. In Figur 2 wurde die erste Halbwelle, in Bild 3 die zweite Welle einer beliebigen Trennung erneut chromatographiert. Diagramm 2 zeigt, daß die Anteile vor dem Konzentrationsmaximum höher aktiviert sind als die nachfolgenden, die zu größerem Teil aus Racemat bestehen. Für Bild 3 gilt das Entgegengesetzte. Daher lassen sich auch bei schlechten Trennungen nach mehrmaligen Durchläufen optisch reine Präparate gewinnen.

d) Drehwinkelkurven mit zwei Nulldurchgängen.

Diese treten an amorphem Cellulosetriacetat auf, das Spuren von kristallinen Anteilen enthält. Voraussetzung ist unter anderem, daß kristallines und umgefälltes Acetat für das Sorbat entgegengesetzte Spezifität besitzen (siehe -Dreifachkurven-).

Der häufigste Fall bei der chromatographischen Racematspaltung ist der Durchlauf eines reinen Racemates.

Die Kombination Konzentrations-/Drehwinkelkurve erlaubt Aussagen über den Aktivierungsgrad, falls die spezifische Drehung unbekannt ist.



Typ -1- stellt eine "normale" Aktivierung in der Größe von 10-20% dar. Die Drehwinkelkurve besitzt einen scharfen Nulldurchgang, der genau mit dem Konzentrationsmaximum zusammenfällt. Bei zunehmender Anreicherung wird die Steigung der α -Kurve im Schnittpunkt mit der Zeitachse geringer, bis schließlich eine erkennbare Verschiebung von Nulldurchgang und c-Maximum auftritt (Typ -2-). Bei weiterer Verbesserung erscheint das zweite Enantiomere zuerst als aufgesetzter, dann aber als separater Peak, der meist ausgeheizt werden muß (Typ -3-). Der Nulldurchgang des Drehwinkels ist nun sehr langgezogen; er fällt mit dem Konzentrationsminimum zusammen.

Unter den Bedingungen:

140g mikrokristallines Triacetat, 71-56 μ oder 90-56 μ , Bett-höhe L = 40cm, $\phi_i = 3,1$ cm, 250mg Substanz, 20°C (oder T-Programm) und 100-300ml/h werden z.B. getrennt (verschiedene Lösungsmittel):

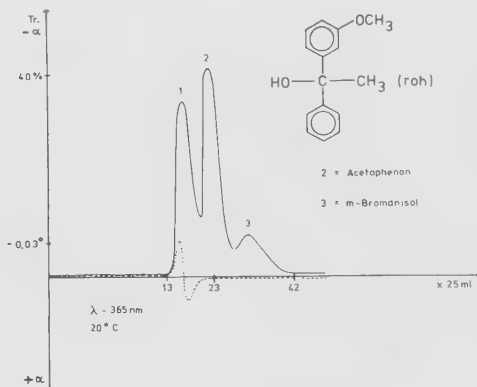
- nach -1- die Mehrzahl der Racemate (Mandelsäure, ihre Ester, Alkylcycloalkane und -alkene....),
- nach -2- 5-Phenylbornen und 2-Phenylbornan,
- nach -3- Trögersche Base, 2,5-Dibromhydrochinon-decamethylen-äther, 2-Phenylcyclohexanon und -heptanon sowie 1-Phenyl-1-o-anisyläthan.

2.) Stoffgemische

Die Kombination Polarimeter/UV-Detektor erlaubt bei der Chromatographie von Gemischen in vielen Fällen eine Aussage über die Zahl der enthaltenen Racemate und Nichtracemate. Voraussetzung ist eine genügende Trennleistung des Sorbens gegenüber Stoffklassen und Enantiomeren.

Versuch I:

140g mikrokristallines Triacetat, 90-56 μ , L = 40cm, $\phi_1 = 3,1$ cm, Äthanol, 250mg 1-Phenyl-1-m-anisyläthanol (Rohprodukt) in 3ml, 20°C, 300ml/h.



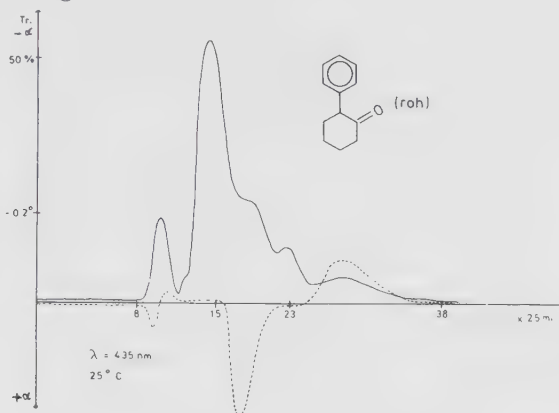
Im UV-Chromatogramm erkennt man drei Peaks, doch nur der erste wird aktiviert. Diese Substanz muß das chirale Reaktionsprodukt aus Acetophenon (2) und m-Bromanisol (-Grignard) sein. Die UV-Peakhöhe ist nur bei Kenntnis der Extinktion ein Maß für die Konzentration.

Versuch II:

140g mikrokristallines Triacetat, 71-56 μ , L = 40cm, $\phi_1 = 3,1$ cm, Äthanol, 250mg ungereinigtes, rohes 2-Phenylcyclohexanon in 3ml, 25°C, 200ml/h.

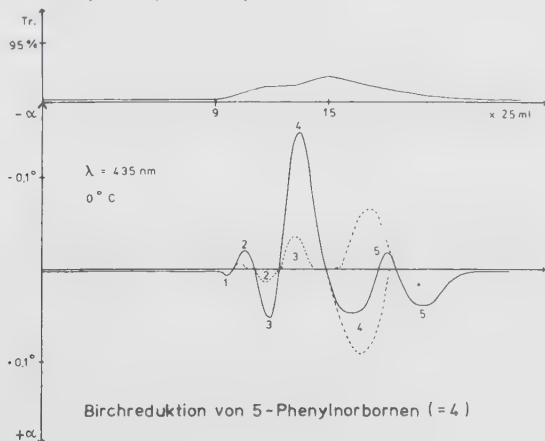
Durch die Anwesenheit eines stark absorbierenden Stoffes verliert das UV-Chromatogramm an Aussagekraft, nicht aber die Drehwinkelkurve. Die erste Substanz, die normal akti-

viert wird, ist 2-Phenylcyclohexanol, dann folgt das vollständig getrennte 2-Phenylcyclohexanon, dessen UV-Signal aber im -tailing- der (inaktiven) Verbindung mit hoher Extinktion untergeht:



Versuch III:

Säule wie bei II, 250mg Birchreduktionsprodukt von 5-Phenyl-norbornen in 3ml, 0° C , 100ml/h.



Das UV-Chromatogramm (oben) liefert hier keine Aussage über die Zahl der enthaltenen Verbindungen. Das α -Chromatogramm ist aus (mindestens) 5 Einzelkurven zusammengesetzt, denn zu jeder vom Schreiber registrierten Halbwelle gehört eine (möglicherweise überdeckte) entgegengesetzte Welle (flächen-gleich; gestrichelt), da ein Racemat eingesetzt wurde.

2.1.3. Die mittlere Anreicherung

Nach der vollständigen Elution der chromatographierten Probe befindet sich in der Vorlage wieder das ursprüngliche Gemisch bzw. Racemat. Für eine Trennung ist daher die Unterteilung des Eluats in Fraktionen erforderlich. Die Wahl der Größe der Fraktionsvolumina hängt von der Problemstellung ab. Steht kein Polarimeter als Durchflußdetektor zur Verfügung, so empfiehlt sich die Fraktionierung des Substanzpeaks in möglichst kleine Portionen, die einzeln gemessen werden. Soll eine maximale Anreicherung erzielt werden, können bei schlechten Trennungen die mittleren Anteile verworfen oder erneut chromatographiert werden, da nur die Anfangs- und Endfraktionen deutlich aktiviert sind.

Die Chromatogramme eines Polarimeters gestatten ein reproduzierbares Abgreifen der gewünschten Fraktionen.

Zur Darstellung möglichst hoch aktivierter Produkte ist die α -Kurve in vier Fraktionen zu teilen:

1. Fr.: vom Durchbruch der Substanz bis zum α -Maximum I

2. Fr.: vom α -Maximum bis zum Nulldurchgang

3. Fr.: vom Nulldurchgang bis zum α -Maximum II

4. Fr.: vom 2. α -Maximum bis zum Elutionsende

Die Fraktionen 1 und 4 enthalten dann genügend große Mengen an hoch aktivierter Substanz.

Wenn die Wirksamkeiten von verschiedenen Sorbenzien gegenüber verschiedenen Racematen verglichen werden sollen, ist die Angabe einer definierten Größe, der mittleren Anreicherung $\bar{A}$, erforderlich.

Keinesfalls reproduzierbar ist die Angabe der maximal erreichten spezifischen Drehungen, da deren Höhe nur von der Größe der ersten und letzten Fraktionen bestimmt wird.

Die Aufteilung eines Drehwinkelchromatogramms in zwei Fraktionen, die alle positiv oder negativ drehenden Anteile enthalten, sollte dagegen vergleichbare Resultate liefern.

1.Hälfte: vom Durchbruch bis zum Nulldurchgang

2.Hälfte: vom Nulldurchgang bis zur vollständigen Elution

Beim Auswiegen der in den beiden Halbwellen enthaltenen Substanz fällt auf, daß trotz genauen Fraktionswechsels im Nulldurchgang beide Fraktionen z.T. sehr verschiedenes Gewicht besitzen. Die Verteilung der Substanz auf die beiden Halbwellen ist abhängig der Probe selbst, der Säulenfüllung und den Betriebsbedingungen.

Versuch I: Variation der Strömung

Standardsäule mit mikrokristallinem Cellulosetriacetat,
90-56 μ , Äthanol, 250mg Mandelsäure in 3ml, 20°C.

<u>Strömung</u>	<u>Gewichtsverhältnis 1.Hälfte/2.Hälfte</u>
50ml/h	1:3,1
100ml/h	1:2,6
200ml/h	1:1,4
300ml/h	1:1,1
400ml/h	1:1,0

Versuch II: Variation der Belastung

Säule wie bei I, 300ml/h.

<u>Belastung</u>	<u>Gewichtsverhältnis 1.Hälfte/2.Hälfte</u>
250mg	1:1,1
500mg	1:1,3
1g	1:2,2
2g	1:2,7

Eine Verschiebung des Konzentrationsmaximum gegenüber dem Nulldurchgang ist nicht zu beobachten, da die Peaks in diesen Fällen ein von den Betriebsbedingungen abhängiges tailing besitzen. Die erste Welle (bis zum Punkt $\alpha=0$ und $c=\max$) fällt daher gewichtsmäßig kleiner aus.

Die Verschiedenheit der beiden Fraktionen ist bei Mandelsäure besonders deutlich.

Bei der Bestimmung des Aktivierungsgrades zeigen die gemessenen Drehwinkel dagegen eine gute Übereinstimmung:

Versuch:

Standardsäule mit krist. Triacetat, 71-56 μ , Isopropanol:
Wasser = 5:1, 250mg Mandelsäure in 3ml, 20°C, 50ml/h.

1.Hälfte: 74mg in 3ml Wasser, $\alpha_{365}^{25} = +1,515^\circ$, $[\alpha] = +61,4^\circ$

2.Hälfte: 170mg in 3ml Wasser, $\alpha_{365}^{25} = -1,520^\circ$, $[\alpha] = -26,8^\circ$

Die Gleichheit von Drehwinkeln bedeutet, daß in den Fraktionen gleiche Mengen an überschüssigen Enantiomeren enthalten sind.

1.H.: 74mg, $[\alpha]_{365}^{25} = +61,4^\circ \hat{=} 11\% \hat{=} 8,15\text{mg (+)E-Überschuß}$

2.H.: 170mg, $[\alpha]_{365}^{25} = -26,8^\circ \hat{=} 4,8\% \hat{=} 8,16\text{mg (-)E-Überschuß}$

Als Kriterium für die Güte einer Trennung kann daher der gemittelte Enantiomerenüberschuß dienen. Viele unserer Racematspaltungen zeigten, daß die getrennte Menge an Enantiomeren, Verluste beim Aufarbeiten vermieden, in beiden Halbwellen etwa gleich ist, auch wenn die Auswaagen stark differieren.

Zur Berechnung einer mittleren prozentualen Anreicherung $\bar{A}$ werden die gefundenen Enantiomerenmengen gemittelt (zu $\bar{M}^*$) und ihr Gehalt in den gemittelten Einwaagen ($\bar{M}$) bestimmt.

Für obiges Beispiel berechnet sich $\bar{M}^*$ zu 8,155mg, $\bar{M}$ zu 122mg und somit $\bar{A}$ zu 6,7%.

Falsch wäre es, die Einzelanreicherungen zu mitteln, da dieser Wert, vor allem wenn eine Fraktion zu knapp gewählt wurde, viel zu hoch ausfällt (in unserem Beispiel: 7,9%).

Bei Proben, deren spez. Drehung unbekannt ist, kann $\bar{A}$ als mittlere spezifische Drehung $[\bar{\alpha}]_\lambda^T$ angegeben werden:

$$\text{da } [\alpha] = \frac{\alpha \cdot 1000 \cdot y}{x} \quad \text{gilt: } [\bar{\alpha}]_\lambda^T = \frac{\sum |\alpha| \cdot 1000 \cdot y}{\sum x}$$

x = Einwaage (mg); y = Lösungsmittel (ml).

In der vorliegenden Arbeit wurde $\bar{A}$ bei Kenntnis der spez. Drehung in Prozent, sonst als $[\alpha]_{435}^{25}$ angegeben, da diese Wellenlänge für die Erfassung auch geringer Anreicherungen günstig ist. In wenigen Fällen wurde die Drehung bei noch kürzeren Wellen bestimmt.

Wurde ein Peak in mehr als zwei Fraktionen unterteilt, so ist die Berechnung von $\bar{A}$ nach folgender Gleichung durchzuführen:

$$\text{da } A = \frac{[\alpha] \cdot 100}{[\alpha]_{100\%}} \quad \text{gilt:} \quad \bar{A} = \frac{\sum |\alpha| \cdot 10^5 \cdot y}{\sum x \cdot [\alpha]_{100\%}}$$

$[\alpha]_{100\%}$ ist die spez. Drehung der reinen Antipoden;
y ist konstant zu halten.

Die Berechnung von $\bar{A}$ nach dieser Methode ist identisch mit der Ermittlung des Enantiomergehaltes.

2.1.4. Das Totvolumen

Eine allgemeine Säulenkonstante, deren Kenntnis für die Berechnung einiger chromatographischer Daten notwendig ist, ist das Totvolumen V_d , also das Elutionsvolumen einer nicht retenierten Substanz. Es ist temperaturunabhängig und kleiner als das geringste beobachtete Durchbruchvolumen (höchstens ihm gleich).

1.) Bestimmungsversuch mit Kohlenwasserstoffen

Standardsäule (L = 40cm), mikrokristallines Cellulosetriacetat, 90-56 μ , Äthanol mit 2,5% Mesitylen, 1ml Cyclohexan oder n-Hexan, 20°C, 300ml/h.

Da kein Refraktometer zur Verfügung stand, wurde dem Äthanol Mesitylen zugesetzt, das selbst schnell eluiert wird. Der Durchbruch der Aliphaten beginnt zuerst mit einer Erhöhung der Extinktion des Eluats, da der Alkanpfropf desorbiertes

Mesitylen vor sich herschiebt. Dann verringert sich die ursprüngliche Extinktion durch Elution der nichtabsorbierenden Proben.

Die Anhebung der Nulllinie beginnt nach 7 Fraktionen (zu 25ml), das UV-Minimum liegt bei beiden Alkanen in der 11. Fraktion.

Da bei der Chromatographie von anderen Substanzen geringere Elutionsvolumina gefunden wurden, sind Kohlenwasserstoffe zur Bestimmung des Totvolumens ungeeignet.

Interessant ist jedoch, daß selbst Alkane von Acetylcellulose sorbiert werden; die Spaltung wenig-polarer Verbindungen sollte daher an diesem Sorbens besonders gut gelingen.

2.) Bestimmung mit einem Blattextrakt

Säule wie bei Versuch 1, Äthanol, 2ml alkoholischer Brennesselauszug, 20°C, 300ml/h.

Kurz nach der Elution der 5. Fraktion färbt sich das Eluat gelb, etwas später erscheint das Chlorophyll.

Da sich das Durchbruchvolumen bei Temperaturerhöhung nicht mehr verringert, kann für die Standardsäule ($\phi_1 = 3,1\text{cm}$) bei einer Betthöhe von 40cm ein Totvolumen von 5 Fraktionen angenommen werden.

Eine Säule mit einer Füllung der Korngröße 71-56 μ zeigt einen identischen Wert.

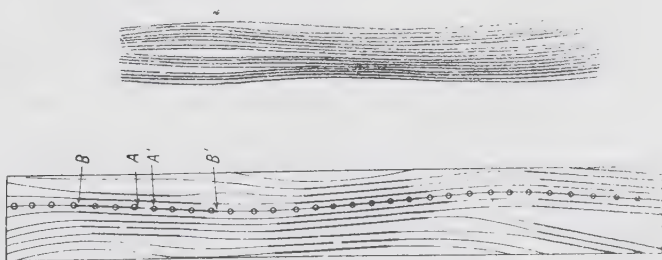
2.2. Das Sorptionsmittel Cellulosetriacetat

2.2.1. Die Cellulose

Cellulose ist der Hauptbestandteil der Zellmembranen der höheren Pflanzen und daher mit Abstand die häufigste organische Verbindung in der Natur. Während die β -1,4-Verknüpfung der D-Glucose-Einheiten lange bekannt ist ⁵⁰⁾, sind Feinheiten der übermolekularen Struktur nicht vollständig aufgeklärt.

Native Cellulose besitzt unverzweigte Makromoleküle aus maximal 10 000 Glucoseeinheiten, die sich so einstellen, daß eine möglichst gestreckte Kette entsteht. Dazu muß sich jede zweite Einheit um 180° verdrehen, was durch röntgenographische Bestimmung der Identitätsperiode zu $10,3\text{\AA}$ ($\hat{=}$ 2 Einheiten) bestätigt wurde ⁵¹⁾.

In einer Faser sind die Moleküle zu "Scharen" vereinigt ⁵²⁾, wobei der Zusammenhalt übereinanderliegender Ketten durch Dispersionskräfte stärker ist als die seitliche Bindung benachbarter Scharen durch H-Brücken ⁵³⁾ (Modelle: Seite 96). Die Röntgendiagramme zeigen weiterhin, daß ein Cellulosefaden aus geordneten (kristallisierten) und weniger geordneten ("amorphen") Anteilen besteht, wobei ein Makromolekül mehrere dieser Zonen durchlaufen kann. Die Art der Ordnung in den kristallinen Bereichen ("Micellen") wird von verschiedenen Autoren anders gedeutet ^{54,55,56,57)}.



Die obere Skizze zeigt eine mehr oder weniger stark von einer idealen Gitterstruktur abweichende Anordnung der Ketten (nach Meyer ⁵⁴⁾, flüssigkeitsartiger Zustand), die untere

Zeichnung dagegen die parallele Ausrichtung der Cellulosemoleküle in einem micellaren System (nach Kratky ⁵⁵⁾).

Trotz der Unklarheit über die Natur der Anordnung läßt sich der Gehalt eines Cellulosematerials an kristallinen Anteilen durch chemische ⁵⁸⁾, röntgenographische ⁶⁰⁾ oder andere Verfahren ^{59,60)} bestimmen.

Staudinger konnte über die partielle Acetylierung von aktivierter Cellulose Aussagen über die Reaktivität des kristallinen und amorphen Anteils einer Faser treffen ⁶¹⁾.

Die freien Hydroxylgruppen der Celluloseketten bilden untereinander H-Brücken aus, die von Wasser gesprengt werden können; dabei entsteht Cellulosehydrat:



Beim Behandeln mit überschüssigem Alkohol wird das Wasser allmählich verdrängt. Der Alkohol kann durch unpolare Flüssigkeiten (Benzol, Cyclohexan, Tetrachlorkohlenstoff u.a.) ersetzt werden. Die Zwischenräume der gequollenen Cellulose sind dann von einem indifferenten Lösungsmittel erfüllt, das keinerlei "Bindung" mit den Hydroxylgruppen eingehen kann. Beim Trocknen bleibt jedoch eine gewisse Menge der Flüssigkeit zwischen den Ketten rein mechanisch eingeschlossen (inkludiert), die selbst bei energischen Bedingungen (100°C, 0,1Torr) nicht entferntbar ist. Wasser dagegen kann durch Öffnen der H-Brücken an die Oberfläche gelangen.

Die Inklusionsfasern zeichnen sich durch eine erhöhte Reaktivität aus. Sie sind nach ca. 24h heterogen peracetyliert, während der Acetylgehalt nicht inkludierter Fasern nach dieser Zeit nur 1-3% beträgt.

Die eingelagerten Moleküle befinden sich nicht bevorzugt in den kristallinen oder amorphen Bezirken, sondern sie sind gleichmäßig auf die gesamte Faser verteilt. Als Beweis dient die partieller heterogene Acetylierung. Das erhaltene Celluloseacetat zeigt im polarisierten Licht ein homogenes Aussehen; mit Chloroform, das nur Triacetat löst, läßt sich

nichts extrahieren.

Die Acetylgruppen sind bei Verwendung inkludierter Cellulose gleichmäßig auf die Faser verteilt; die kristallinen und nichtkristallinen Anteile besitzen gleiche Reaktionsfähigkeit.

Anders verläuft jedoch die heterogene teilweise Acetylierung von trockenen, nicht-inkludierten Fasern.

Hier dringt das Reaktionsgemisch nicht von der Oberfläche, sondern von den Querspalten, die alle Cellulosefasern nach der Reinigung besitzen (etwa alle 500 Einheiten), in das Innere ein. Es bildet sich lokal Triacetat, das mit Chloroform extrahiert werden kann. Auch in diesem Fall ist keine besondere Reaktivität der amorphen Bereiche zu erkennen.

Nach Staudinger sind in den kristallisierten Teilen der Faser die Kristallite so dimensioniert, daß sie röntgenographisch zu erkennen sind, während in den amorphen Bereichen ihr Durchmesser diese Größe nicht erreicht, so daß sie sich der Röntgenbeobachtung entziehen.

2.2.2. Die heterogene Peracetylierung der Cellulose

2.2.2.1. Vorschrift und Ablauf

Das Schering-Verfahren ⁶²⁾ ist eine Acetylierungsmethode, die unter Erhalt der Faserstruktur der Cellulose verläuft. Dem Acetyliergemisch (Acetanhydrid/Eisessig/Perchlorsäure) wird Benzol zugesetzt, das eine Lösung des Celluloseacetats verhindert. Wir fanden folgende Vorschrift als optimal: 200g (aktiviertes) Cellulosepulver (z.B. Schleicher und Schüll Nr. 123 oder Avicel^R), 4l Benzol, 800ml Eisessig, 6ml Perchlorsäure (60%) und 800ml Acetanhydrid werden in der genannten Reihenfolge zusammengegeben und bei 35°C gerührt.

Nach einigen Stunden erwärmt sich das Gemisch auf ca. 45°C; nach 15h wird die Suspension durchscheinend. Nun sind auch die innersten Anteile der Fasern acetyliert, der Acetyl-

wert des Triacetats (44,8%) ist erreicht. Nach dem Aufarbeiten besitzt das Produkt noch etwa die Faserlänge der verwendeten Cellulose. Bei weiterer Einwirkung des Acetyliergemisches zerfallen die Partikel allmählich zu einem feinen Pulver; gleichzeitig verringert sich durch den Abbau der Ketten (zunehmende Löslichkeit der Bruchstücke) die Ausbeute.

<u>Zeitdauer</u>	<u>Ausbeute(%)</u>	<u>acetonlöslicher Anteil(%)</u>
16h	77	46
30h	67	75
72h	65	78
168h	63	84
336h	59	86

Die Vorschrift zur Ermittlung des acetonlöslichen Anteils befindet sich im experimentellen Teil. Die Werte gelten für SS 123. Der Abbau ist von der Säurekonzentration abhängig. Bei dreifacher Säuremenge (HClO_4) gegenüber der Standardvorschrift beträgt die Ausbeute nach 72h nur noch 45%. Staudinger fand nach 24h eine Abnahme des durchschnittlichen Polymerisationsgrades von 2500 auf 415 (mit Benzol inkludierte Cellulose) ⁶¹⁾.

Die Hoffnung, daß durch bevorzugten Abbau der amorphen Anteile der Acetylcellulose ein chromatographisch besonders wirksames Produkt entsteht, wurde nicht bestätigt:

Versuch:

40g kristallines Cellulosetriacetat aus Schleicher und Schüll-Cellulose Nr.123 (abgekürzt SS 123), kleiner 56μ , $\phi_1 = 2,2\text{cm}$, Äthanol, 100mg Mandelsäure in 2ml, 20°C , 50ml/h.

<u>Zeit</u>	<u>Betthöhe</u>	<u>Druck(atü)</u>	<u>V_{dr}(ml)</u>	<u>HTS(mm)</u>	<u>A(%)</u>
16h	28cm	0,30	100	0,95	8,4
30h	22cm	0,52	70	0,87	10,9
72h	20cm	0,64	65	0,66	11,3
168h	19cm	0,82	60	0,67	12,1
336h	18cm	0,86	60	0,71	11,9

Die Tabelle enthält den zur Erreichung von 50ml/h notwendigen Druck, das Gesamtelutionsvolumen, die Bodenhöhe und die erzielte Anreicherung (+ $\bar{A}$ bedeutet, daß zuerst Plusdrehung auftritt) der jeweiligen Säule.

Die relativ hohen Werte für V_{dr} und HTS der ersten Säule zeigen, daß Fasern keine guten Packungen ergeben. Die Partikel der anderen Chargen besitzen keine Faserstruktur mehr, da nach dem Aufarbeiten der Acetylierungsansätze die Acetylcellulose in Form spröder Massen anfällt, die durch Mahlen auf die gewünschte Siebfraction gebracht werden müssen. Die Werte von $\bar{A}$ zeigen, daß eine zwei- bis dreitägige Acetylierung zur Darstellung eines günstigen Präparates genügt. Stärker abgebaute Celluloseetriacetate zeigen keine besseren $\bar{A}$ -Werte mehr, aber auch keine schlechteren!

Die chromatographische Wirksamkeit einer Triacetylcellulose ist daher weitgehend vom Molekulargewicht unabhängig.

Die (vollständige) Trennung der Trögerschen Base an allen 5 Säulen bestätigt die Ergebnisse der Mandelsäureaktivierung. Säule 16h gibt breite Peaks und gerade noch eine Basis-trennung. Die anderen Säulen unterscheiden sich kaum. (Bedingungen: 100mg Trö. in 3ml, Äthanol, 25-45°C, 50ml/h)

2.2.2.2. Die Kristallinität der verwendeten Cellulose

Der Absolutwert des kristallinen Anteils eines Cellulosematerials ist von der Bestimmungsmethode abhängig⁶¹⁾. Verschiedene Verfahren zeigen eine zunehmende Kristallinität in der Reihe:

gefällte Cell. - Holzcell. - Baumwolle, Flachs - Ramie⁶³⁾.

Ramie, das höchstkristalline Produkt, wird aus einer asiatischen Nesselart (Chinagrass) gewonnen. Da diese Cellulose nicht zur Verfügung stand, wurden getestet:

Holzcell., Linterspulver, SS 123 und 144 sowie Avicel^R.

Avicel^R (auch als "Micellpulver" oder mikrokristalline Cellulose bezeichnet) ist ein teilweise abgebautes Produkt (100-300 Einheiten), das medizinisch gegen Fettsucht appliziert wird ⁶⁴).

Folgende Versuche sollten klären, ob die kristallinen und amorphen Bereiche der Cellulose nach der Peracetylierung chromatographisch verschieden wirksam sind.

1.) Holzcellulose

Aus Kiefernholzspänen hergestellte Cellulose ⁶⁵) wird nach der üblichen Vorschrift 4 Tage acetyliert (44% Acetyl), gemahlen und durch 0,056mm gesiebt.

Säule: 40g Acetat, kleiner 56 μ , L = 36cm!, $\emptyset_1$ = 2,2cm, Äthanol, 100mg Trö. in 3ml, 25-45°C, 50ml/h bei 0,08 atü.

Ergebnis: Die Trögersche Base wird erkennbar in 2 Peaks gespalten; die Auflösung beträgt aber nur etwa 50% (d.h. das UV-Minimum liegt in halber Peakhöhe). Die Betthöhe ist bedeutend größer als die von Cellulosetriacetat SS 123/ 16h (Seite -38-), da die Packung noch lockerer ist (0,08atü) und das Präparat stärker quillt.

2.) Cellulose SS 123, SS 144 und Linterspulver ohne Bezeichnung

Diese Präparate werden aus Baumwolle hergestellt.

SS 123 ist für die Säulenchromatographie, Nr.144 für die Beschichtung von Platten geeignet.

Nach der Peracetylierung sind keine Unterschiede bei der chromatographischen Racematspaltung zu erkennen. Die erzielten Auflösungen und Anreicherungen sind (innerhalb der Streubreite) identisch.

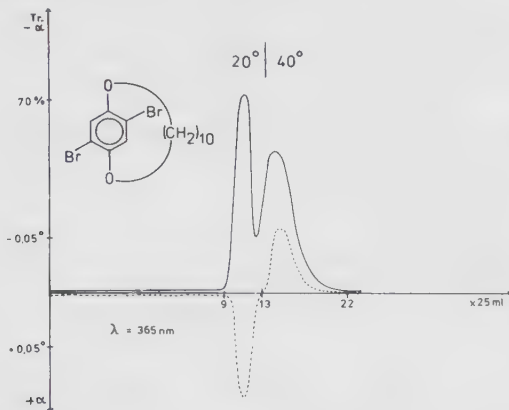
3.) Mikrokristalline Cellulose

Dieses Produkt ergibt nach der Acetylierung ein deutlich wirksameres Sorptionsmittel. An "normalkristallinem" Triacetat unvollständig getrennte Enantiomere werden besser "aufgelöst", bei vollständigen Spaltungen zeigt der stärker gebundene Antipode eine erhöhte Retention:

a) 2,5-Dibromhydrochinon-decamethylenäther

Versuch I:

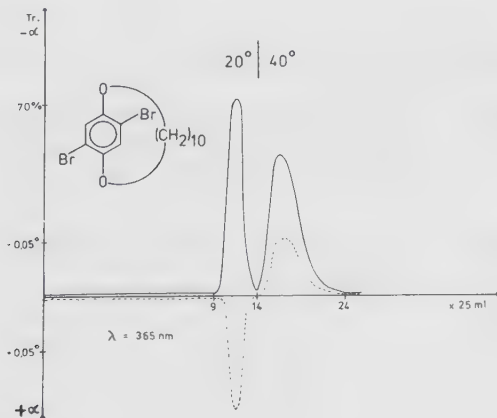
Standardsäule, 140g Cellulosetriacetat aus SS 123, 71-56 μ ,
Äthanol (15min 80°), 200mg Ansaverb. in 5ml, 20-40°C, 200ml/h.
UV-Kurve ausgezeichnet, α -Kurve gestrichelt.



Die Ansaverbindung wird in zwei Peaks gespalten. UV- und Drehwinkelkurve zeigen, daß die Trennung jedoch nicht vollständig ist.

Versuch II:

Bedingungen wie bei I, doch mikrokristallines Triacetat.



An diesem Sorbens wird die Ansaverbindung vollständig gespalten (Basistrennung). Zur Erzielung der gleichen Auflösung muß die Betthöhe bei sonst identischen Bedingungen für normales Acetat einen Meter betragen.

b) Die beiden (vollständig getrennten) Enantiomeren der Trögerschen Base besitzen an mikrokrist. Triacetat bei 40°C (isotherm) die gleiche Retention wie an normalem bei einem Programm 25-45°C.

c) 2-Phenylcyclohexanon wird nur an mikrokristallinem Acetat vollständig gespalten ($\bar{A} = 275^\circ$), an krist. Acetylcellulose beträgt $\bar{A}$ nur 250° .

d) 1,1-Phenyl-o-anisyläthan wird von normalem Acetat gerade vollständig getrennt (40°C), an mikrokristallinem liegen unter gleichen Bedingungen die Peaks viel weiter auseinander.

Die Betriebsbedingungen und spez. Drehungen sind in Abschnitt - 2.3 - zu finden.

An mikrokrist. Cellulosetriacetat stark retenierte Substanzen werden also an normalem Acetat schneller eluiert.

Dies gilt auch für Nichtracemate:

Brenzcatechin, o-Xylol u.a. besitzen an ersterem höhere Retentionen.

Schnell eluierte Verbindungen wie Mandelsäure werden geringfügig besser aktiviert.

Säule I: Avicel, 72h acetyliert, kleiner 56μ , 40g, $\phi = 2,2\text{cm}$

Säule II: SS 123, 72h acetyliert, kleiner 56μ , 40g $\phi = 2,2\text{cm}$
Äthanol (15min 80°), 100mg Mandelsäure, 20°C , 50ml/h.

<u>Säule</u>	<u>Betthöhe</u>	<u>Druck(atü)</u>	<u>V_{dr}(ml)</u>	<u>HTS(mm)</u>	<u>$\bar{A}(\%)$</u>
I	19cm	0,84	65	0,73	+12,3
II	20cm	0,64	65	0,66	+11,3

4.) Aus Schweizer's Reagenz umgefällte Cellulose

Cellulosepulver SS 144 wird umgefällt ⁶⁶⁾ und 6 Tage acetyliert (45% Acetyl). Da größere Mengen Cellulose nach Lit. 66 nur schwer darstellbar sind, wurde die Wirksamkeit des Triacetats dünn-schichtchromatographisch geprüft.

Platte I : mikrokristallines Triacetat

Platte II : Triacetat einer vorher umgefällten Cellulose

Platte III: nachträglich umgefälltes mikrokrist. Triacetat

Fließmittel: Äthanol, Proben: (+)- und (-)-Tröger-Base

<u>Platte</u>	<u>R_f-Wert(+)-Trö</u>	<u>R_f-Wert(-)-Trö</u>
I	0,19	0,42
II	0,60	0,60
III	0,53	0,53

Racemische Tröger-Base wird an Schicht II und III nicht mehr getrennt; die einzelnen Antipoden zeigen identische R_f-Werte.

Dünn-schichtplatten mit kristallinem Cellulose-triacetat sind zur Bestimmung der Verwendbarkeit und Elutionswirkung eines Lösungsmittels bestens geeignet; die Schichten haften auch ohne Binder recht gut (Pulver 1h in einer Kugelmühle mahlen, 30g in 80ml Äthanol suspendieren).

Mandelsäure besitzt an Platte I folgende R_f-Werte:

Wasser Methanol Äthanol Isopropanol n-Butanol Diäthyläther

0,11 0,71 0,63 0,56 0,54 0,68

Zusammenfassung:

Der Gehalt eines Cellulosematerials an kristallinen Anteilen beeinflusst die chromatographische Wirksamkeit des heterogen dargestellten Cellulosetriacetats.

Aus Lösungen regenerierte Cellulose besitzt nur einen Bruchteil der Kristallinität von nativen Fasern ⁶⁷⁾. Ihr Triacetat vermag die Trögersche Base im Gegensatz zu kristallinem Acetat nicht mehr zu spalten. Holzcellulose ergibt ein schlechteres Sorptionsmittel als Baumwolle.

Die Anzahl der kristallinen Bereiche in einem Cellulosepräparat bestimmt die spätere Wirksamkeit.

Native Cellulose besitzt also durch ihre übermolekulare Struktur vorgebildete "Zentren", die nach der Peracetylierung chromatographisch besonders wirksam werden.

Die Dünnschichtversuche zeigen, daß es gleichgültig ist, ob diese Zentren vor, während oder nach der Acetylierung zerstört werden; das besondere Trennvermögen geht dabei verloren.

Die heterogene Acetylierung verläuft unter Erhalt der Faserstruktur; die übermolekulare Ordnung in den kristallinen Bereichen bleibt bestehen.

Die besondere Eignung des (stark abgebauten) mikrokristallinen Pulvers bestätigt, daß das Molekulargewicht der Acetylcellulose die Trennwirkung kaum beeinflusst (s.a. Seite 38). Die "aktiven Zentren" abgebauter Fasern sind vielleicht sogar besser zugänglich.

Mikrokristalline Cellulose ist sehr gut geeignet für die Herstellung eines wirksamen Sorptionsmittels zur chromatographischen Racematspaltung; in keinem Fall zeigte ihr Triacetat eine schlechtere Trennung als das einer anderen Cellulose (Ramiefasern standen nicht zur Verfügung).

2.2.2.3. Die Bedeutung des Acetylierungsgrades

Bei der Acetylierung werden in die hydrophile Cellulose mitelpolare Gruppen eingeführt; die Quellbarkeit durch organische Flüssigkeiten nimmt dabei zu (bis zur Löslichkeit). Cellulose inkludiert zwar Benzol, Cyclohexan u.a., doch können die organischen Moleküle erst nach dem Vorquellen mit Wasser, das H-Brücken besonders gut sprengen kann, in die Cellulosematrix gelangen. Nach dem Trocknen bleibt das Gitter etwas aufgeweitet; das Acetyliergemisch kann rasch ins Innere eindringen.

Bei mercerisierten⁶⁸⁾, trockenen Fasern ohne eingeschlossene Moleküle erfolgt der Angriff an der Oberfläche und in den Querspalten, da das Reaktionsgemisch (Benzol/Acetanhydrid) die festen H-Brücken innerer Ketten nicht lösen kann. Die Peracetylierung dauert daher äußerst lange⁶¹⁾. Gereinigte Baumwolle ist aber meist inkludiert (Bleichen, Entfetten...), was die schnelle Acetylierung käuflicher Cellulosen beweist. Der Eisessiggehalt des Gemisches sollte die Reaktion noch beschleunigen, da Säuren H-Brücken ausbilden (und öffnen) können.

Staudinger fand, daß nach partieller Acetylierung die Gruppen längs der Faser gleichmäßig verteilt sind. Er deutete dies als reaktive Identität der kristallinen und amorphen Bereiche.

Wir untersuchten die Verteilung der Acetylgruppen auf den Querschnitt der Fasern von käuflichen und eigenen, niederen Celluloseacetaten durch die Chromatographie der Trögerschen Base. Dieses Racemat ist hierfür besonders geeignet, da es nur an kristallinem Triacetat vollständig gespalten wird und zuerst (-)-Drehung zeigt. Bei allen anderen Celluloseacetaten erfolgt schnelle Elution mit anfänglicher (+)-Drehung, sofern sie einheitlich im Querschnitt sind (z.B. umgefälltes Triacetat, homogenes Cellulose-2,5-acetat).

Folgende Sorbenzien wurden getestet:

1.) heterogen dargestelltes Cellulosediacetat

Die Acetylierung der Cellulose mit Pyridin/Acetanhydrid verläuft polymeranalog (kein Abbau) und langsam ⁶⁹⁾. Die erste Hydroxylgruppe (hauptsächlich die primäre) wird schon nach einem Tag, die zweite erst nach 9 Tagen verestert. Das im Reaktionsmedium lösliche Triacetat bildet sich nach etwa 27 Tagen ⁶¹⁾. Durch Abbruch nach 12 Tagen und Aufarbeiten des Filtriererrückstandes erhielten wir ein Präparat mit 33% Acetylgehalt (etwa Diacetat).

2.) Cellulose-2,5-acetat (Woelm)

Dieses Sorbens, von Lüttringhaus ausführlich getestet, wird durch nachträgliches partielles Verseifen von Cellulosetriacetat direkt im homogenen Reaktionsmedium gewonnen ⁷⁰⁾.

Die Methode wurde speziell für industrielle Bedürfnisse entwickelt, da das Produkt in Aceton vollständig löslich ist. Es wird zur Film-, Folien- und Faserproduktion verwendet und für chromatographische Zwecke von Woelm vertrieben.

3.) Acetylcellulosen (Macherey-Nagel) mit 10, 20, 30 und 40%

Die Präparate werden nach Auskunft der Firma heterogen dargestellt. Besonderes Interesse verdient das Produkt mit 40% Acetylgehalt, da es dem Acetylwert nach mit dem Woelmschen Sorptionsmittel identisch ist.

4.) kristallines Triacetat (aus SS 123)

5.) umgefälltes Triacetat (aus Präparat 4)

6.) Cellulose Macherey-Nagel MN 100

Da ein Mahlen vermieden werden mußte (dies würde einen Gradienten des Acetylwertes längs des Faserradius zerstören), dürfen nur die Anreicherungen der Präparate 1, 3, 4(16h) und 6, deren Teilchen Faserstruktur besitzen, sowie die von Nr. 2, 4(72h) und 5 (mit fast kugelförmigen Partikeln) miteinander verglichen werden.

Auf die zuerst auftretende Drehrichtung hat die Teilchenform keinen Einfluß (nur auf die Größe der Aktivierung).

Reihe I:

- Sorbens 1: Cellulosediacetat (heterogen aus SS 144)
Sorbens 3a: MN 100 Ac 10 (für Säulenchromatographie, 10%)
Sorbens 3b: MN 100 Ac 20
Sorbens 3c: MN 100 Ac 30
Sorbens 3d: MN 100 Ac 40
Sorbens 4: Cellulosetriacetat (heterogen aus SS 123, 16h)
Sorbens 6: Cellulose MN 100

Versuch: 40g Pulver, kleiner 56μ (nur ausgesiebt), $\phi_1 = 2,2\text{cm}$, Äthanol (15min 80°C), 100mg Substanz, 20°C (bei* Nr.4 $25-45^\circ\text{C}$), 50ml/h (+ $\bar{A}$ bedeutet: zuerst (+)-Drehung; in Prozent).

<u>Sorbens</u>	<u>Betthöhe(cm)</u>	<u>Druck(atü)</u>	<u>$\bar{A}$ Tröger-B.</u>	<u>$\bar{A}$ Mandels.</u>
1	26	0,2	+ 12	+1,8
6	37	0,03	+ 1	+0,2
3a	34	0,05	- 7	+0,6
3b	28	0,2	- 27	+3,4
3c	27	0,3	- 8	+1,2
3d	32	0,1	- 44	+8,1
4	28	0,3	-100 *	+8,4

Aus den Werten der Betthöhe und des Druckes läßt sich die Quellbarkeit der Sorbenzien nicht berechnen, da die Packungsdichte hauptsächlich von der (unbekannten) Faserlängenverteilung abhängt.

Reihe II:

- Sorbens 2: Cellulose-2,5-acetat
Sorbens 4: Cellulose-3-acetat (heterogen aus SS 123, 72h)
Sorbens 5: Cell.-3-acetat (Nr.4 in CHCl_3 gelöst, mit CH_3OH gef.)

<u>Sorbens</u>	<u>Betthöhe(cm)</u>	<u>Druck(atü)</u>	<u>$\bar{A}$ Tröger-B.</u>	<u>$\bar{A}$ Mandels.</u>
2	21	0,35	+ 24	+ 9,7
5	20	0,34	+ 15	+10,4
4	20	0,64	-100 *	+11,3

Der für die Strömung 50ml/h notwendige Druck wird von der Korngrößenverteilung in der Charge $< 56\mu$ bestimmt.

Gefällte Pulver sind härter; sie werden bei gleichen Bedingungen weniger zerkleinert als kristallines Acetat.

Der Mandelsäure gegenüber zeigen die Sorbenzien nur eine quantitative Abstufung der Anreicherung. Die hoch acetylierten Cellulosen, besonders das kristalline Triacetat, aktivieren das Racemat deutlich.

Bei Trögerscher Base tritt neben einer starken Schwankung der Ausbeuten vor allem Spezifitätsumkehr auf.

Die gefällten und somit im Partikel homogenen Sorbenzien 2 und 5 zeigen zuerst (+)-Drehung und eine mäßige Anreicherung. Heterogen dargestelltes Diacetat 1 verhält sich etwa gleich. Durch die lange Acetylierungsdauer verteilen sich die Gruppen gleichmäßig in der Faser, zusätzlich wird entstandenes Triacetat vom Reaktionsgemisch gelöst. Daher darf angenommen werden, daß dieses Sorptionsmittel nur Glucose-diacetat-Einheiten besitzt, wobei sich die Acetylgruppen auf die drei Hydroxyle verteilen können (die OH-Gruppe von C_6 wird bevorzugt verestert). Die Anwesenheit von Triacetat ist unwahrscheinlich. Diese Acetylcellulose mit der Kristallstruktur des Ausgangsmaterials sorbiert das (+)-Enantiomere der Trögerschen Base schwächer.

Die ebenfalls kristallinen Macherey-Nagel-Produkte zeigen dagegen entgegengesetzte Spezifität (bis zum 10%-Acetat). Dies ist nur durch die Annahme einer die inneren, wenig acetylierten Ketten umschließenden Haut aus Triacetat zu erklären, die die (+)-Tröger-Base besonders stark retiniert. Der Acetylgehalt der Faser nimmt dann von außen (45%) nach innen (bis 0%) ab; titriert wird natürlich ein Mittelwert. Der Trögerschen Base stehen nun bei der Chromatographie genügend aktive Zentren an einer günstigen Stelle, nämlich der Oberfläche, zur Verfügung.

Da mit abnehmenden Acetylwerten auch die Anteile an Triacetat kleiner werden, sinken die Anreicherungen. Säule 3b fällt aus der Reihe; vielleicht wird dieses Produkt anders hergestellt.

Als Konkurrenz zur Trennung der Trögerschen Base in der äußeren Triacetatschicht wäre eine Sorption durch innere Bereiche denkbar, die sich in der Spezifität unterscheidet (Säule 1). Wie spätere Versuche zeigen, genügt schon ein geringer Anteil von Kristallen in amorphem Triacetat (das etwa die gleiche Trennwirkung wie krist. Diacetat besitzt), um eine Drehwinkelkurve mit zwei Nulldurchgängen zu verursachen (Dreifachkurve), die jedoch an Säule 3d (40% Ac) nicht beobachtet wird.

Nach dreistündigem Mahlen kehrt das Sorbens MN 100 Ac 40 seine Spezifität gegenüber der Trögerschen Base um; nun tritt eine angedeutete Dreifachkurve mit anfänglicher (+)-Drehung auf ($\bar{\alpha} = +10\%$).

Die Dreifachkurven der Trögerschen Base entstehen nur, wenn zwei konträre Sorptions- (und Trenn-) Mechanismen miteinander konkurrieren können; der resultierende Drehsinn in einer Trennstufe wird von den thermodynamischen und kinetischen Daten der beiden Mechanismen sowie von der Belastung bestimmt. Bei der Elution kann daher zuerst (+)- oder (-)-Drehung gemessen werden; die letzten Fraktionen sind aber stets rechtsdrehend (durch die (+)-Trö., die von den krist. Anteilen bis zur "Sättigung" sorbiert wird und nur schwer zu eluieren ist).

Bei den ursprünglichen Partikeln des Sorbens MN 100 Ac 40 werden die inneren Bereiche durch die Hülle aus Triacetat abgeschirmt, die sich mit dem (+)-Enantiomeren der Trögerschen Base sättigt (Gleichgewicht); dadurch wird den überschüssigen (-)-Molekülen die Diffusion in das für sie spezifische Innere erschwert. Es resultiert zuerst (-)-Drehung, doch reicht für eine vollständige Trennung die Zahl der Zentren nicht aus.

Nach dem Zerkleinern befinden sich die Mono- und Diacetat-Einheiten an der Oberfläche neuer, feinsten Teilchen. Nun können die Mechanismen konkurrieren; es werden Dreifachkurven mit anfänglicher Plusdrehung registriert.

Die längs des Partikeldurchmessers homogenen Sorbenzien 1, 2, 4 und 5 ändern beim Mahlen ihre Spezifität gegenüber der Trögerschen Base nicht.

Die Kristallinität einer partiell acetylierten Cellulose läßt sich durch Nachacetylieren (nach Standardvorschrift) feststellen.

Die Sorbenzien 1, 3a-d und natürlich 6 lassen sich so in ein dem Pulver 4 chromatographisch gleiches Produkt überführen, das die Träger-Base in zwei Peaks spaltet.

Präparat 2 dagegen zeigt nach der Peracetylierung weiterhin das Verhalten amorpher Acetylcellulose (zuerst Plusdrehung bei Trö.).

Die Stufe des Triacetates ist, mit gewissen Ausnahmen (z.B. Trögersche Base), die chromatographisch wirksamste, was auch von Lüttringhaus bei einem kurzen Vergleich der Spaltbarkeit von 2-Hydroxyketonen an amorphem 2,5- und 3-Acetat festgestellt wurde ⁴⁸).

Die Sorption durch umgefüllte Acetylcellulosen erfolgt vielleicht an einer Glucoseeinheit ("Auflegen" des Aromaten); H-Brücken ausbildende Moleküle wie die Träger-Base können bei niederen, amorphen Acetaten einen weiteren Fixierungspunkt in einer freien OH-Gruppe finden.

In der nativen Cellulose ist eine wirksame Sorptionsstelle (aktives Zentrum) bereits vorgebildet (Seite 44).

Bei der Acetylierung werden weitere funktionelle Gruppen eingeführt und die Gitterabstände wegen des erhöhten Raumbedarfs der Substituenten etwas aufgeweitet; die übermolekulare Struktur bleibt (bei heterogener Reaktion) erhalten. Die Notwendigkeit der Peracetylierung gilt nicht nur für die Trögersche Base, auch 2-Phenylcyclohexanon, 1,1-Phenyl-o-anisyläthan u.a. werden an krist. Diacetat bedeutend schlechter getrennt als an krist. Triacetat. Die Betrachtung der Zugänglichkeit der Zentren liefert eine befriedigende Erklärung.

Die chromatographische Racematspaltung an Cellulose und Stärke gelingt nur nach der maximalen Quellung durch Wasser. Ein geringer Zusatz von organischen Lösungsmitteln verringert Quellung und Aktivierung ³³⁾.

Wasser löst die H-Brücken der Polysaccharidketten und lagert sich ein; das Polymere quillt.

Die Zentren der Cellulose sind dann optimal zugänglich – aber nur für Moleküle, die selbst H-Brücken lösen können (z.B. Catechine). Bei Wasser-Alkohol-Gemischen kann der negative Einfluß von unspezifischen Verteilungsgleichgewichten diskutiert werden ³¹⁾, wahrscheinlicher ist aber eine verringerte Permeabilität des Polymeren durch zunehmende H-Brücken-Bildung zwischen den Ketten (Quellrückgang). Dadurch wird den Enantiomeren die Diffusion ins Innere erschwert.

Selbst wenn die unsubstituierte Cellulose (z.B. für einen 2-Phenylcyclohexanon-Antipoden) spezifische Sorptionsstellen besäße (wir bezeichnen im folgenden diese Überstruktur-Einheiten als "Nischen"), wären sie in Äthanol unwirksam, da die Moleküle nicht eindiffundieren können; ihnen ist der Weg durch die starken H-Brücken der Matrix versperrt. Unser auf Seite 95 unterbreitetes Nischenmodell fordert aber zumindest eine Acetylgruppe (an C₃) auf zwei Glucose-einheiten einer einzelnen Nische, insgesamt also ein Monoacetat.

Kristallines Cellulosetriacetat zeichnet sich durch das Fehlen jeglicher H-Brücken in der Matrix aus; dadurch quillt es auch in organischen Lösungsmitteln. Die chromatographisch wirksamen Zentren sind auch für unpolare Moleküle frei zugänglich.

Ein aktives Zentrum wird gebildet durch eine bestimmte Anordnung der benachbarten Ketten und Acetylgruppen, die chromatographische Wirksamkeit ist von seiner Zugänglichkeit abhängig.

Durch Umfällen des kristallinen Triacetats werden die Zentren zerstört, durch teilweises Verseifen nur unzugänglich.

Die Notwendigkeit des optimalen Quellens (Abschnitt 2.2.3.2) und die Retention von Aromaten (Punkt 2.2.3.3, mit Modell einer Nische) untermauern diese Vorstellung.

Zusammenfassung:

Die Wirksamkeit von kristallinem Cellulosetriacetat beruht auf leicht zugänglichen Struktureinheiten, die in nativen Fasern bereits vorgebildet sind; nur in Ausnahmefällen zeigt eine andere Acetylcellulose ein besseres Trennvermögen.

2.2.3. Die Optimierung des Rohproduktes

2.2.3.1. Die Korngröße

Triacetylcellulose fällt bei der Herstellung in Form hellbrauner, spröder Brocken an (72h), die durch Zerkleinern und Aussieben in für die Säulenchromatographie geeignete Teilchen überführt werden müssen. In einer Kaffeemühle läßt sich das Rohprodukt leicht pulvern, doch das Sieben wird durch elektrostatische Aufladung (vor allem bei feinen Partikeln) erschwert.

Ideal wäre eine Packung aus Teilchen mit einheitlicher Korngröße, was in der Praxis aber nicht realisierbar ist (zu hohe Verluste). Daher wählten wir folgende Siebfraktionen:

1.) Charge 160-90 μ

Diese Fraktion fällt beim Mahlen bevorzugt an. Sie ist für die chromatographische Racematspaltung ungeeignet; die Säulen zeigen sehr breite Peaks und schlechte Anreicherungen.

2.) Charge 90-71 μ

Sie eignet sich gut für 1m-Säulen. Die Trögersche Base wird bis zu der Belastung 0,5g/100g Sorbens vollständig getrennt (L = 90cm, $\phi_1 = 2,2$ cm). Für kürzere und damit handlichere Säulen ist die Charge nur bei tiefsten Temperaturen verwendbar.

3.) Charge 90-56 μ

Aus der nachgemahlenen Charge 1 läßt sich diese Fraktion bequem herausziehen. Sie erlaubt in der Standardsäule bei geringem Überdruck (ca. 0,2atü) hohe Strömungen (bis 400ml/h), auch bei tiefen Temperaturen (bis -20°C , je nach Lösungsmittel); die Belastbarkeit liegt im Durchschnitt bei 0,2g/100g Sorbens (Überlastung ist definiert als Absinken von n^1 oder $\bar{A}$ auf 90% eines maximalen Wertes).

Nachteilig sind die relativ großen Bodenhöhen HTS, die für schnell eluierte Proben bei 3-5mm liegen.

4.) Charge 71-56 μ

Sie ist für die meisten Trennprobleme optimal.

Die Packung in der Standardsäule ist um 5% stärker gequollen als bei Nr.3; bei 0,3atü fließen 300ml/h. Für höhere Strömungen ist diese Siebfraction nicht geeignet, da sonst die Füllung aufreißt (wenn mit N_2 -Druck gearbeitet wird).

Die Belastbarkeit beträgt im Mittel 0,28g/100g Sorbens.

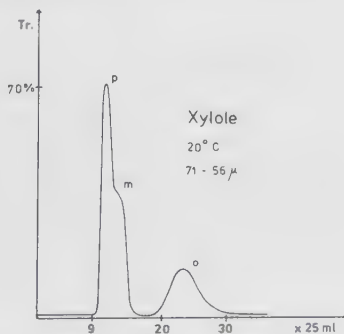
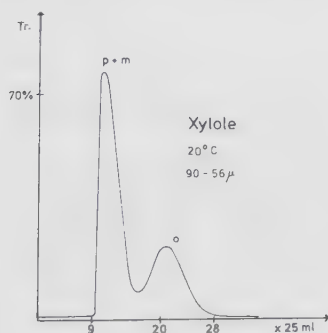
Die Bodenhöhen sind deutlich besser als bei Fraktion 90-56 μ , was sich besonders bei der Trennung nichtracemischer Aromaten auswirkt.

Versuch: Trennung von Xylolen

Bett Höhe 40cm, $\phi_1 = 3,1\text{cm}$, mikrokristallines Triacetat, Äthanol, 250mg Xylolgemisch, 20°C , 300ml/h.

Säule I: 90-56 μ , Säule II: 71-56 μ

Ergebnis: Säule II trennt die o-Verbindung vollständig ab; gleichzeitig ist m-Xylol als Schulter erkennbar.



Auch die Spaltung von Racematen gelingt an Säule II besser:

Versuch:

ca. 140g mikrokristallines Triacetat, $L = 40\text{cm}$, $\varnothing_1 = 3,1\text{cm}$, Äthanol, 250mg Mandelsäure, 20°C , 200ml/h.

<u>Fraktion(μ)</u>	<u>HTS(mm)</u>	<u>+$\bar{A}$(%)</u>
90-71	8,6	1,8
90-56	5,1	3,8
71-56	0,9	10,7

Die Partikel 90-71 μ "verdünnen" das wirksame Pulver 71-56 μ der Charge 90-56 μ .

Bei gut spaltbaren Racematen kann der Korngrößenbereich weiter gewählt werden:

Versuch:

Säule wie oben, 250mg Racemat, 20°C , 300ml/h, $\bar{A}$ als $[\bar{\alpha}]_{435}^{25}$.
Substanz I: 5-Phenylnorbornen, Substanz II: 2-Phenylnorbornan.

<u>Fraktion(μ)</u>	<u>-$\bar{A}$(I)</u>	<u>+$\bar{A}$(II)</u>
90-56	210°	31°
71-56	260°	47°

Bei vollständigen Racemattrennungen sind die Chargen 90-56 μ und 71-56 μ etwa gleichwertig; da wegen der starken Retention des 2. Peaks eine hohe Strömung erwünscht ist, empfiehlt sich in diesen Fällen das gröbere Pulver.

5.) Charge 56-37 μ

Diese äußerst mühsam aussiebbarer Fraktion bringt gegenüber der vorherigen keine Verbesserung mehr.

Trennungen im System Wasser:Äthanol = 2:1 sind stark von der Korngröße abhängig. Bei den Chargen 90-71 μ und 90-56 μ erscheint die erste α -Welle des Mandelsäurechromatogramms augenscheinlich kleiner (Skizze Seite 24). Der erste Durch-

bruch erfolgt schon nach 7, bei feineren Pulvern nach 22 Fraktionen. Die Aktivierung durch grobe Präparate ist mangelhaft.

Versuch:

Standardsäule, krist. Triacetat, Äthanol:Wasser = 1:2, außerhalb ausgetauscht (siehe -Quellen-), 250mg Mandelsäure in 3ml, 20°C, 50ml/h.

<u>Fraktion(μ)</u>	<u>+Ä(%)</u>
90-71	8,4
71-56	26,8
56-37	26,2

Charge 56-37 μ zeigt auch in reinem Äthanol kaum bessere Trennungen als die engere Fraktion 71-56 μ .

6.) Charge < 56 μ

Sie fällt bei der Herstellung größerer Partikel stets als Abrieb an. Die feinen Teilchen können mit einem Gemisch aus Benzol:Essigsäure = 3:1 angeteigt, getrocknet und erneut gemahlen werden.

Sie eignen sich auch gut zur Füllung halbpräparativer Säulen mit einer Betthöhe von etwa 20cm (Seite 38). Die Verteilung der Korngrößen in dieser Siebfraction ist von der Acetylierungsdauer und der Aufarbeitung abhängig.

Die Belastbarkeit beträgt ca. 0,3g/100g Sorbens.

Die kurzen Säulen besitzen einige Vorteile:

- 1.) Die Analysenzeiten sind kurz (ca. 1h).
- 2.) Der Bedarf an Material ist gering; neue Sorbenzien können ohne großen Aufwand getestet werden (etwa 40g).
- 3.) Die Aktivierung ist zwar nicht besser als an einer Säule 71-56 μ , doch sind die Peaks schärfer (HTS bis 0,5mm). Dadurch wird die Nachweisempfindlichkeit für schlechte Trennungen erhöht. Bei längeren Säulen mit größeren Teilchen kann eine geringe Drehung durch Peakverbreiterung unentdeckt bleiben.

Zusammenfassung:

Eine gut ausgesiebte Charge 71-56 μ ist für alle Lösungsmittel und Racemate optimal. Vorversuche können an kurzen Säulen mit Teilchen kleiner 56 μ durchgeführt werden. Die Siebfraction 90-56 μ läßt hohe Strömungen zu; sie eignet sich zur Darstellung größerer Mengen an vollständig trennbaren Enantiomeren.

2.2.3.2. Das Quellen

Nach der Ermittlung einer günstigen Korngrößenverteilung war das optimale Quellverfahren für ein beliebiges Lösungsmittel zu entwickeln.

Folgende Methoden sind denkbar:

- 1.) Einfüllen des trockenen Pulvers und Nachwaschen mit dem Elutionsmittel.
- 2.) Das Sorbens außerhalb der Säule im Fließmittel verschieden lang bei verschiedener Temperatur quellen und in Suspension einfüllen.
- 3.) Das Sorbens in einem "günstigen" Lösungsmittel vorquellen, dann Austausch gegen das Eluens (außerhalb oder in der Säule).

Die Bedeutung des Quellens für die Racematspaltung an Polysacchariden erkannten schon Krebs und Lüttringhaus; sie führten das rasche Absinken der Anreicherung bei einem Lösungsmittelwechsel auf den Quellrückgang zurück.

Eine genaue Aussage über den Einfluß von Quellmethode und Quellzustand auf die Trennleistung eines Sorptionsmittels ist aber nur bei Verwendung eines Eluens zulässig.

Die Quellung, d.h. das Eindringen eines Lösungsmittels in die Matrix unter Aufweiten der Gitterabstände, ist mit einer Volumenzunahme verbunden, die quantitativ durch Messen der Betthöhe einer Füllung erfaßt werden kann.

Tabelle 1: Zeit- und Temperaturabhängigkeit

Betthöhen in cm für 150g Celluloseetriacetat, $90-56\mu$, $\phi_1 = 3,1\text{cm}$.

I = mikrokristallines Triacetat (aus Avicel)

II = kristallines Triacetat (aus SS123)

III = amorphes Triacetat (II in Chloroform gelöst, mit Methanol ausgefällt)

<u>Behandlung</u>	I	II	III
Trocken eingefüllt	30,5	30,5	30,5
Äthanol, 1h kalt	35	36	37
" 5min 80°	42	43	43
" 15min 80°	42,5	43	43
Benzol, 30min kalt	38	38	34
" 5min 80°	45	45	45

Frische Füllungen können etwas höhere Werte besitzen.

Während des Betriebes, vor allem bei Druckanwendung, werden die Packungen geringfügig dichter.

Die maximale Quellung erfordert Zeit und erhöhte Temperatur. Das Sieden bewirkt aber nicht die Entfernung eingeschlossener Luftbläschen, da nach dem Quellen im Vakuum (1h kalt) die Betthöhe unverändert bleibt.

Die Werte gelten für frisch getrocknete Pulver. Ein über Monate trocken aufbewahrtes Präparat quillt langsamer, erreicht aber nach 15min Sieden gleiche Betthöhen (nach 1h kalt nur 31-33cm!).

Die Siebfraktion $71-56\mu$ quillt um ca. 5% mehr; kleine Teilchen ($<56\mu$) zeigen nach dem Einfüllen unter Druck geringere Betthöhen (I, 15min 80° : 37-39cm).

Die maximal erreichbare Höhe einer Packung wird bei gleichen Quellbedingungen hauptsächlich vom Fließmittel bestimmt.

Tabelle 2: Lösungsmittel

Betthöhen in cm für 150g mikrokristallines Cellulosetriacetat, $90-56\mu$, $\phi_1 = 3,1\text{cm}$, 15min 80° (Wasserbadtemperatur). Das Sorbens wird direkt im Lösungsmittel erwärmt.

Wasser	36,5
Wasser:Äthanol = 2:1	38
Methanol	43
Äthanol	42,5
n-Propanol	42,5
Isopropanol	41,5
tert.-Butanol	34
Diäthyläther	32,5
Diisopropyläther	33
Benzol	45
Cyclohexan	32
n-Hexan	31

Je stärker ein Lösungsmittel einquillt, desto dunkler wird das in trockenem Zustand weiße Pulver. Mit aliphatischen Kohlenwasserstoffen oder Äthern benetzte Acetylcellulose bleibt hell. In Wasser, wäßrigem Äthanol und Alkoholen ist die Füllung leicht braun gefärbt; diese Suspensionen wirken sehr gallertig. Beim Filtrieren "schwimmt" die Oberfläche des Gels nach dem Abtropfen des überschüssigen Lösungsmittels bei leichtem Schütteln des Trichters. Auf Druck wird das Gel sofort sandig-fest; bei Nachlassen des Druckes wird das Sorbens erneut gallertig.

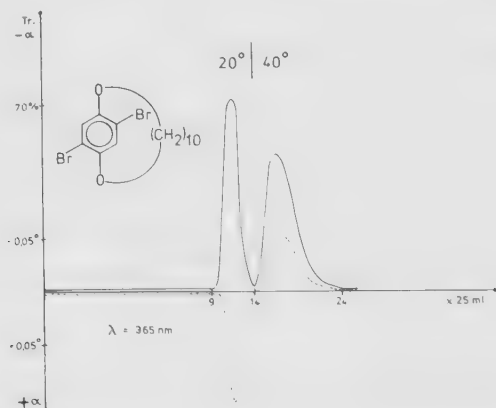
In Benzol quillt Acetylcellulose am stärksten; die Suspension ist durchscheinend braun mit bläulicher Opaleszenz.

Die Wahl der Quell- bzw. Einfüllmethode eines Sorptionsmittels ist von seiner Art und dem verwendeten Fließmittel abhängig. Während Methode I (trockenes Einfüllen) oft bei Aluminiumoxid und Kieselgel angewandt wird, ist sie für die Chromatographie an Gelen gänzlich ungeeignet, da die Füllung Luftblasen enthält, die Quellung nicht vollständig ist und die Säule durch langsames Nachquellen dicht wird.

Bei der Chromatographie der Ansaverbindung 2,5-Dibromhydrochinon-decamethylenäther wird die Bedeutung des optimalen Quellens am besten erkennbar.

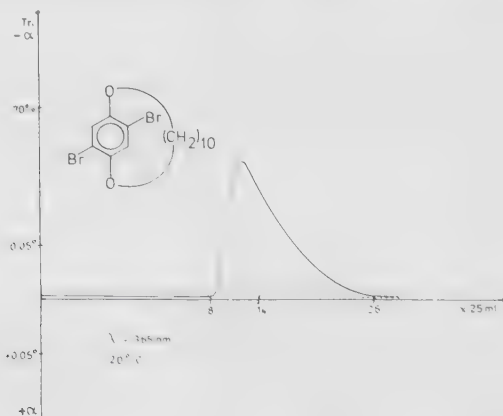
Versuch II:

140g mikrokristallines Cellulosetriacetat, 71-56 μ , Äthanol, 15min 80°C, L = 40cm, $\phi_1 = 3,1$ cm, 200mg Ansaverbindung in 5ml, 20-40°C, 200ml/h.



Versuch III:

165g mikrokrist. Triacetat, 71-56 μ , Äthanol, 60min kalt, L = 40cm, 20°C isotherm, sonst wie oben.



Das (-)-Enantiomere ist nicht einmal als Schulter zu erkennen. Die Trennung entspricht dem Typ -2- (Seite 27), $\bar{A} = 63\%$.

Die Trögersche Base und die Ansaverbindung besitzen große Moleküle, denen ein Zutritt in eine unvollständig gequollene Matrix schwerer fallen könnte als den kleineren bzw. flexibleren Molekeln des 2-Phenylcyclohexanons oder des 1,1-Phenyl-o-anisyläthans. Jedoch ist auch für diese Verbindungen ein vollständiges Quellen notwendig.

Substanz A: 2-Phenylcyclohexanon

Substanz B: 1,1-Phenyl-o-anisyläthan

Säule I: 160g mikrokrist. Triacetat, 90-56 μ , Äthanol
12h kalt, L = 38cm, 250mg Racemat, 25-35°C bei
A, 40°C bei B, 300ml/h.

Säule II: 145g mikrokrist. Triacetat, 90-56 μ , Äthanol
15min 80°C, L = 38cm, sonst wie bei I.

<u>Säule</u>	<u>$\bar{A}(A)$</u>	<u>$\bar{A}(B)$</u>
I	+ 74%	- 87%
II	+100%	-100%

Auch andere, nicht vollständig spaltbare Racemate werden an Säule I schlechter aktiviert als an Säule II:

5-Phenylnorbornen um 38%, 2-Phenylnorbornan sogar um 43%.

Weniger empfindlich sind die Trennungen nichtracemischer Aromaten (z.B. Xylole oder Diphenyl/Naphthalin).

In allen Fällen zeigt Säule I wesentlich breitere Peaks als Säule II. Die Mandelsäure ist zur quantitativen Erfassung der Peakverbreiterung durch Bestimmung der Bodenhöhen besonders geeignet, da sie rasch eluiert wird und keine zu hohe Extinktion besitzt (ihr Signal liegt im linearen Bereich unseres Detektors).

Versuchsreihe IV:

Krist. Triacetat, 71-56 μ , L = 40cm, $\phi_1 = 3,1$ cm, Äthanol, 250mg Mandelsäure in 3ml, 20°C, 50ml/h.

<u>Quellbedingung</u>	<u>$V_r(25ml)$</u>	<u>$\bar{A}(\%)$</u>	<u>HTS(mm)</u>
1h kalt	8	8,6	1,38
5min 80°C	7	11,2	0,92
15min 80°C	7	11,6	0,86

Eine unvollständige Quellung erhöht vor allem den Koeffizienten C der van Deemter-Gleichung (Stoffaustausch); die schlechte Trennleistung einer wenig gequollenen Füllung ist auf die große Bodenhöhe HTS zurückzuführen.

Die Zugänglichkeit der Sorptionszentren im Innern der Partikel wird durch zunehmendes Quellen erhöht. Folgende Versuche bewiesen, daß die Nischen nicht etwa erst durch das Quellen gebildet werden (z.B. durch Aufweiten der Gitterabstände oder Solvatisierung der Acetylgruppen); sie sind auch im trockenen Pulver vorhanden, doch schwer zugänglich.

Als Testsubstanz wurde wiederum Trögersche Base gewählt. Stehen ihr keine Zentren zur Verfügung, drehen die ersten Anteile nach rechts. Wird zuerst (-)-Drehung beobachtet, überwiegt die Sorption in den Nischen (vgl. Seite 55). Die gemessene Anreicherung läßt Rückschlüsse auf die Zugänglichkeit der Zentren bei dem jeweiligen Quellzustand zu.

1.) 150g trockenes Triacetat (mikrokristallin, 90-56 μ) werden in die Standardsäule eingefüllt; nach der Aufgabe der Trögerschen Base (200mg in 4ml) wird bei 20°C mit Äthanol nachgewaschen.

Die Elution erfolgt in einem Peak; zuerst wird (-)-Drehung gemessen, $\bar{A} = 27\%$. Die Füllung ist nicht mehr aus der Säule entfernbar, d.h. selbst unter diesen Bedingungen quillt das Sorbens; damit wird eine Aussage über die Wirksamkeit der Nischen im trockenen Pulver unsicher.

2.) In Diäthyläther quillt Acetylcellulose in der Kälte überhaupt nicht:

150g gut getrocknetes (100°C, 24h) mikrokrist. Triacetat (90-56 μ) werden in Äther aufgeschlämmt, entgast und in die Standardsäule eingeschlämmt. Die Betthöhe beträgt 30,8cm (Trockenfüllung: 30,5cm). Die Elution der Trögerschen Base erfolgt rasch; zuerst wird ebenfalls (-)-Drehung beobachtet, $\bar{A} = 1,2\%$. Die Zentren sind also auch im trockenen Pulver

vorhanden, aber kaum zugänglich. Quillt man das Sorbens in Äthanol vor und tauscht dann gegen Äther aus, liegen die Anreicherungen viel höher (bei Trö.: -18,6%).

Da Acetylcellulose in Benzol am stärksten quillt, wurde versucht, durch Vorquellen in Benzol und Austausch gegen Äthanol die Wirksamkeit des Sorptionsmittels für Mandelsäure zu erhöhen.

1.) 130g kristallines Cellulosetriacetat (aus SS 123), Siebfraction 71-56 μ , werden in Benzol 5min auf 80°C erwärmt. Nach Abkühlen erfolgt der Lösungsmittelaustausch durch Nachwaschen mit Äthanol im Büchnertrichter (ca. 300ml). Dann wird das Sorbens in Äthanol aufgeschlämmt und in die Standardsäule gegossen. Betthöhe: 40cm. Der Quellzustand des Benzols bleibt also kurz nach dem Verdrängen durch Äthanol erhalten.

Versuch: 250mg Mandelsäure, 20°C, 100ml/h.

Ergebnis: $V_r = 6$ Fr., $\bar{A} = +16,8\%$, HTS = 0,80mm.

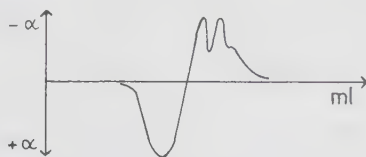
Die angehobene Nulllinie (70% Transmission) zeigt, daß das eingequollene Benzol nur langsam ausgewaschen wird; es verbessert die Aktivierung der Mandelsäure.

2.) Nach Durchfluß von 500ml Äthanol sinkt die Nulllinie auf 90% Transmission ab; gleichzeitig setzt sich die Füllung um 0,5cm (beim Klopfen der Säule mit einem Korkring).

Versuch: wie oben.

Ergebnis: $V_r = 6,5$ Fr., $\bar{A} = +10,1\%$, HTS = 0,93mm.

Die Drehwinkelkurve besitzt folgendes Aussehen:



Derartig zerrissene α -Peaks sind typisch für Hohlräume in einer Füllung durch Quellrückgang.

3.) Die Säule 2 wird geleert und die Suspension erneut eingegossen. Bethöhe: 39cm.

Versuch: wie bisher.

Ergebnis: $V_r = 6,5$ Fr., $\bar{A} = 11,1\%$, $HTS = 0,88\text{mm}$.

Die Drehwinkelkurve zeigt jetzt einen "glatten" Verlauf.

Das Vorquellen mit Benzol bringt bei Mandelsäure nur dann eine Verbesserung, solange der Aromat noch eingequollen ist; die Säulen altern aber während des Betriebs durch Auswaschen des Benzols. Dabei entstehen Risse und Kanäle in der Packung, wodurch die Trennung verschlechtert wird.

Das System Cellulosetriacetat/Äthanol wird durch 15-minütiges Erwärmen des Sorbens direkt im Fließmittel optimal behandelt.

Methode III (Vorquellen) bringt aber bei höheren Alkoholen, die Acetylcellulose nur unvollständig quellen, Erfolg.

Es wurden 4 Quellvorschriften getestet:

- 1.) Im Fließmittel 1h bei Raumtemperatur stehenlassen.
- 2.) Im Fließmittel 15min auf 80°C erwärmen.
- 3.) Eine aus Äthanol suspension (15min 80°) gefüllte Säule wird mit dem neuen Elutionsmittel gespült ($3 \times V_d$).
- 4.) Das Sorbens wird in Äthanol vorgequollen (15min 80°); Lösungsmittelaustausch außerhalb der Säule.

Reihe I: n-Propanol

140g krist. Triacetat, $71-56\mu$, n-Propanol ($<1\%$ H_2O), 250mg Mandelsäure in 3ml, 20°C , 100ml/h, L-Werte für $\phi_1 = 3,1\text{cm}$.

<u>Quellbedingung</u>	<u>L(cm)</u>	<u>$V_r(25\text{ml})$</u>	<u>$\bar{A}(\%)$</u>	<u>HTS(mm)</u>
1	33	5,5	1,7	6,42
2	40	7,5	6,5	1,50
3	40	7,5	6,9	1,95
4	40	7,5	7,6	1,58

n-Propanol erreicht noch die Bethöhe L des Äthanol nach dem Erwärmen, doch wird die Anreicherung der Säule 4 nicht erreicht.

Reihe II: Isopropanol

Versuchsbedingungen wie bei n-Propanol.

<u>Quellbedingung</u>	<u>L(cm)</u>	<u>V_r(25ml)</u>	<u>-Ä(%)</u>	<u>HTS(mm)</u>
1	33	6,5	4,9	8,71
2	39	8,5	8,8	4,04
3	40	9,0	11,4	3,45
4	40	9,0	13,8	2,55

Versuch III: tert.-Butanol

Legende wie bisher, doch 30°C, da der Alkohol bei 20° kristallisiert.

<u>Quellbedingung</u>	<u>L(cm)</u>	<u>V_r(25ml)</u>	<u>-Ä(%)</u>	<u>HTS(mm)</u>
2': 1h 80°	32	3	0,7	4,18
4	36	5	12,3	1,45

Auch nach langem Erwärmen quillt tert.-Butanol nicht mehr ein, beim Austausch über Äthanol geht die Quellung zurück.

Die höheren Alkohole sind für Mandelsäure wenig geeignet (im Vergleich zu Alkohol-Wasser-Gemischen), doch zeigen sie bei anderen Racematen zum Teil erstaunliche Verbesserungen gegenüber Äthanol (Abschnitt 2.2.4.).

Die beste Quellmethode bei den meisten Lösungsmitteln ist ein Vorquellen in Äthanol (15min 80°C) und dessen Verdrängung durch das gewünschte Eluens; sie ist auch bei aliphatischen Kohlenwasserstoffen und Äthern anzuwenden, obwohl nach dem Austausch die Quellung stark zurückgeht.

Wie die Versuche mit Benzol als Vorquellmittel zeigten, kann sich dieses an der Trennung beteiligen. Jedoch wird Benzol von kristallinem Cellulosetriacetat stark reteniert (inkuldiert), im Gegensatz zu Äthanol.

Wären bei den Säulen 4 größere Mengen Äthanol an der Trennung beteiligt, so würde zuerst (+)-Drehung resultieren; zumindest müßte die Anreicherung geringer sein als die an den Säulen 2. Alle Alkohole ab C₃ (wasserfrei) eluieren aber in nach Vorschrift -4- gefüllten Säulen bevorzugt das (-)-Enantiomere der Mandelsäure mit der besten Anreicherung.

Da Wasser-Alkohol-Gemische besonders für die Spaltung von Mandelsäure geeignet sind, lohnt sich die Ermittlung einer optimalen Quellmethode, die nicht durch Vorschrift -4- beschrieben wird.

Versuchsreihe: Wasser:Äthanol = 2:1

140g krist. Triacetat, 71-56 μ , werden nach folgenden Vorschriften gequollen, Betthöhen L für $\varnothing_i = 3,1\text{cm}$, 250mg Mandelsäure in 3ml Gemisch, 20°C, 50ml/h.

- 1.) Das trockene Sorbens 3h bei 20°C im Fließmittel stehenlassen; die anfänglich dünne Suspension wird dabei dickflüssig (140g in 350ml). Nach 3h noch 10min auf 80°C erwärmen, kalt eingießen.
- 2.) In Äthanol 10min auf 80°C, nach dem Austausch nochmals im Gemisch 10min auf 80°C erwärmen.
- 3.) Fließmittelaustausch in der Säule.
- 4.) Austausch wie üblich außerhalb der Säule, nicht im Gemisch erwärmen; Suspension sofort eingießen.
- 5.) Das trockene Pulver wird in Benzol erwärmt (5min 80°C). In der Nutsche erst mit 300ml Äthanol, dann mit 500ml Gemisch nachwaschen. Nach dem Suspendieren im Fließmittel sofort einfüllen.
- 6.) Sorbens -4- nach dem Austausch 3 Tage im Gemisch nachquellen lassen.
- 7.) Stufenweiser Austausch über Äthanol (15min 80°C), Äthanol:Wasser = 1:1 (300ml) und Äthanol:Wasser = 1:2 (300ml). 1h im Fließmittel suspendieren, dann eingießen.
- 8.) Zuerst Verdrängen des Äthanols (15min 80°C) mit 300ml Gemisch 1:1; nach Aufschläumen in diesem Gemisch in die Säule füllen, mit 1 Liter durchspülen, dann Füllung aus der Säule entfernen, mit 500ml Fließmittel (Gemisch Wasser:Äthanol = 2:1) waschen, 1h quellen lassen, eingießen.

<u>Quellbedingung</u>	<u>L(cm)</u>	<u>V_r(25ml)</u>	<u>+$\bar{A}$(%)</u>	<u>HTS(mm)</u>
1	36	20	24	2,3
2	38	21	22	2,4
3	39,5	21	18	4,1
4	40	21	27	2,3
5	40,5	19	25	2,7
6	39	21	30	2,1
7	39	21	34	2,1
8	39	21	39	2,0

Die Werte für $\bar{A}$ und HTS sind Mittelwerte.

Die erzielten Anreicherungen fallen bei wäßrigen Alkoholen nicht immer gleich aus. Vielleicht bilden sich unspezifische Verteilungsgleichgewichte aus, die die stereospezifische Sorption beeinflussen.

Die beste Methode ist aber stets die stufenweise Verdrängung des eingequollenen Äthanols durch Gemische mit steigendem Wassergehalt bis hin zum optimalen Fließmittel (für Mandelsäure: Äthanol:Wasser = 1:2). So wurde einmal an einer nach Vorschrift -8- gefüllten Säule ein $\bar{A}$ von 46% erreicht. Bei dieser Trennung bestanden die ersten und letzten Anteile aus fast reinen Enantiomeren.

Zusammenfassung:

Erst durch Erwärmen des kristallinen Cellulosetriacetats in Äthanol (15min 80°C) werden die aktiven Zentren des Sorbens optimal zugänglich. Bei Verwendung anderer Fließmittel quillt man am besten mit Äthanol vor und tauscht dann außerhalb der Säule (bei Gemischen eventuell stufenweise) aus.

Die Sorption der Trögerschen Base (und anderer Racemate) erfolgt in den kristallinen Bereichen der Acetylcellulose, wie die Versuche mit dem Triacetat einer umgefällten Cellulose zeigten. Die röntgenographisch erfaßbaren Kristallite einer Faser mit ihrer konstanten (parallelen?) Ausrichtung der Ketten und definierten Lage der Glucoseeinheiten zueinander sind entscheidend.

Leider lassen unsere bisherigen Versuche keine Aussagen über das Problem der Ordnung in den amorphen Teilen nativer Fasern zu. Selbst wenn dort aktive Zentren vorhanden wären (mit einer anderen Dimensionierung), so könnten diese nach der Peracetylierung chromatographisch kaum wirksam werden, da sogar die Nischen der kristallinen Bereiche erst nach dem maximalen Quellen richtig zugänglich sind.

Beim Lösen der kristallinen Acetylcellulose werden mit Sicherheit alle Feinheiten der übermolekularen Struktur zerstört. Umgefälltes Cellulosetriacetat sollte sich daher vom kristallinen Ausgangsprodukt chromatographisch deutlich unterscheiden, da das Fehlen der freien Hydroxylgruppen eine teilweise Regeneration (wie bei Cellulose) ausschließt.

2.2.3.3. Das Lösen der kristallinen Acetylcellulose

2.2.3.3.1. Dreifachkurven

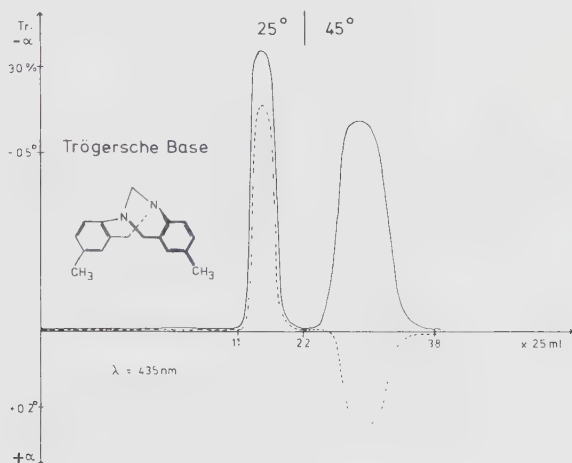
Ein Korn (z.B. $71\mu\text{m}$ Ø) der kristallinen Acetylcellulose, wie es nach dem Aufarbeiten (3 Tage acetylieren) und Mahlen anfällt, besteht aus den locker miteinander verbundenen Einzelfädchen der abgebauten Fasern. Nach häufigem Aufkochen in Äthanol (zur Entfernung von gelben Verunreinigungen oder für Quellversuche) entsteht eine gewisse Menge Abrieb (u.a. durch Dampfbläschen im Innern der Partikel).

Der Versuch, durch Lösen und Fällen bzw. Eintrocknen farblose, harte Teilchen zu erhalten, führt allerdings zu Produkten, die bei chromatographischen Racematspaltungen bedeutend geringere Aktivierungen erzielen.

Kristallines Cellulosetriacetat ist je nach Acetylierungsdauer in Aceton nur teilweise löslich; mit Wasser läßt es sich wieder ausfällen. In Chloroform ist nur die Stufe des Triacetates (fast) vollständig löslich. Cellulose-2,5-acetat quillt nur sehr stark, da CHCl_3 die restlichen H-Brücken nicht sprengen kann.

Auch das Triacetat wird anfänglich nur stark gequollen ("angelöst"), die aktiven Zentren werden dabei nur teilweise zerstört.

Versuch I: Trögersche Base an kristallinem Cellulosetriacetat
140g Triacetat (aus SS 123), 90-56 μ , Äthanol (15min 80°C),
L = 40cm, $\phi_1 = 3,1$ cm, 250mg Trö. in 4ml, 25-45°C, 300ml/h.



Versuch II: Anlösen des kristallinen Acetats

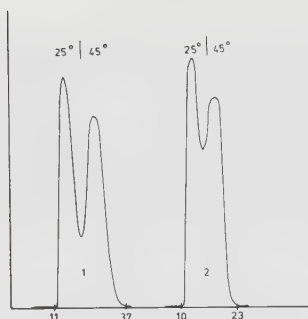
1.) 500g krist. Triacetat (aus SS 123), 90-56 μ , werden in 2 Litern Chloroform mit einem Handmixer verteilt, bis eine gelatineartige, durchscheinende "Lösung" entsteht. Nach zweitägigem Stehen wird diese in 8L Methanol gegossen; das aufgearbeitete Präparat bringt man auf die Korngröße 90-56 μ .

2.) Die Gallerte aus 500g Acetat und 2L Chloroform wird nicht in Methanol gegeben, sondern in flachen Schalen bei 50°C eingetrocknet. Nach dem Zerkleinern siebt man durch 90-56 μ .

Versuchsbedingungen: wie bei I

UV-Chromatogramm 1: "gelöstes" und gefälltes Triacetat

" 2: "gelöstes" und getrocknetes Triacetat

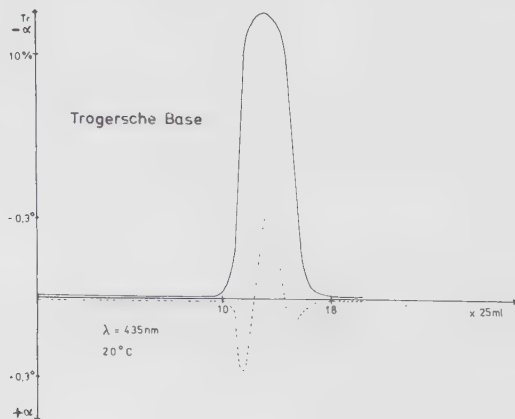


Die Trögersche Base wird in zwei erkennbare Peaks gespalten; die Trennung des 2-Phenylcyclohexanons sieht ähnlich aus. Die nur angelösten Celluloseacetate besitzen noch genügend Zentren zur deutlichen Aktivierung dieser Racemate. Die (fast) vollständige Zerstörung der ursprünglichen kristallinen Struktur gelingt erst bei folgender Behandlung:

Versuch III: Dreifachkurven

500g krist. Triacetat, 90-56 μ , werden in 4L Chloroform verteilt; die Lösung wird bei 80°C (Trockenschrank) auf 2L Volumen eingedunstet, wobei ihre Viskosität stark abnimmt. Dann gießt man sie wie bei Versuch II entweder in Methanol oder dampft bis zur Trockne ein; die Präparate werden wiederum auf die Korngröße 90-56 μ gebracht.

Chromatographiebedingungen: wie vorher, jedoch 20°C isotherm.



An beiden Proben wird die Trögersche Base in einem Peak eluiert; die Drehwinkelkurven besitzen bei beiden Säulen zwei Nulldurchgänge, die Gewichtsverteilungen auf die drei α -Wellen sind allerdings unterschiedlich.

Gegenüber anderen Racematen erweisen sich die beiden Sorbenzien als nahezu identisch; daher ist dem Produkt 1 (gelöst/gefällt) der Vorzug zu geben (falls amorphes Triacetat verwendet werden soll), da es farblos anfällt und weniger löslich ist (beim Fällern bleiben unter den beschriebenen Bedingungen ca. 35% der Einwaage in Lösung).

Die Zerstörung der aktiven Zentren im kristallinen Acetat wird nicht alleine durch die erhöhte Temperatur beim Eindampfen der Lösung verursacht, da sich krist. Acetylcellulose z.B. 3h auf 150°C erhitzen läßt, ohne die Wirksamkeit bei chromatographischen Racematspaltungen zu verlieren. Das Erwärmen bewirkt nur ein besseres Lösen des Polymeren; nur dadurch wird die übermolekulare Struktur zerstört.

Beim Fällern oder Eindampfen fällt Cellulosetriacetat als amorphes Produkt mit verknäuelten Kettenmolekülen an. Kristalle lassen sich aus Lösungen nur im Laufe von Monaten züchten ⁷¹⁾.

Die Entstehung von Drehwinkel-Dreifachkurven

1.) Aceton als Lösungsmittel.

100g kristallines Cellulosetriacetat (aus SS 144), kleiner 56 μ , werden 24h in 1L Aceton gerührt; die Suspension wird

- a) gesamt in Methanol gegossen
- b) zentrifugiert. Die klare Lösung wird in Methanol gegeben (b_1), der Rückstand getrocknet (b_2).

Die einzelnen Produkte a, b_1 , b_2 werden gemahlen und durch 0,056mm gesiebt. Säule b_1 zeigt bei Trögerscher Base eine α -Doppelkurve mit anfänglicher (+)-Drehung, an Säule b_2 resultiert zuerst (-)-Drehung. Pulver a ergibt eine Dreifachkurve (+)/(-)/(+).

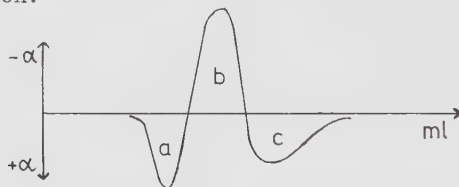
Im Innern der Partikel b_2 befinden sich noch viele aktive Zentren, die nach dem Mahlen an die Oberfläche gelangen.

Nach dreitägiger Einwirkung des Acetons sind auch die restlichen Zentren im Innern der unlöslichen Teilchen vollkommen zerstört. Die Produkte a und b₂ zeigen dann normale Doppelkurven (+)/(-).

2.) Chloroform als Lösungsmittel

Chloroform zerstört die Struktur der Acetylcellulose langsamer als Aceton. Die Lösung enthält auch nach dreitägigem Sieden (wenige) Kristallite als Trübung (vielleicht besonders hochmolekulare Anteile).

Die beiden Sorbenzien von Versuch III (Seite 70) geben bei der Chromatographie der Trögerschen Base Drehwinkel-Dreifachkurven:



Die Verteilung der Base auf die drei Wellen a, b, c ist aber unterschiedlich.

I) Sorbens gelöst/gefällt II) Sorbens gelöst/getrocknet

53mg/+ 12,8%	a	79mg/+ 15,2%
135mg/- 8,3%	b	140mg/- 10%
30mg/+ 9%	c	9mg/+ 3%

Wenn die Lösung einer kristallinen Triacetylcellulose in Chloroform vor der Weiterverarbeitung zentrifugiert wird, zeigen die daraus hergestellten Sorbenzien nur Doppelkurven (+)/(-).

Für Dreifachkurven sind Restkristalle im amorphen Cellulose-triacetat verantwortlich.

Das Sorbat muß allerdings folgende, gleichzeitig nur selten zusammentreffende Bedingungen erfüllen:

- 1.) Ein Enantiomeres muß von kristallinem Triacetat sehr stark sorbiert werden, d.h. eine vollständige Trennung ist Voraussetzung.
- 2.) Die Elution an amorphem Acetat soll schnell erfolgen.
- 3.) Amorphes und kristallines Sorbens müssen für die Substanz entgegengesetzte Spezifität besitzen.
- 4.) Die spezifische Drehung soll möglichst groß sein, damit Dreifachkurven überhaupt registriert werden können.

Mandelsäure-tert.-butylester und 1-Phenyl-1-m-anisyläthanol erfüllen nur die Punkte 2 und 3, alle anderen Testsubstanzen (mit Ausnahme der Trögerschen Base) nur die Forderungen 1, 2 oder 4.

Die Trögersche Base zeigte als einziges Racemat Dreifachkurven. Wir untersuchten dieses "Phänomen" näher, da es die Überlegenheit der Sorption an kristallinem Cellulosetriacetat erkennen läßt.

Zur quantitativen Erfassung wurden einem umgefällten Produkt, das keine Dreifachkurve zeigte, steigende Mengen an kristallinem Acetat zugemischt. Aus der Gaschromatographie ist bekannt, daß Mischphasen, die durch Mischen der Einzelphasen oder durch Vermengen von getrennt belegten Trägern hergestellt werden, etwa gleiche Retentionszeiten ergeben. Ebenso ist es bei einem Mischsorbens aus amorphem und kristallinem Acetat gleichgültig, ob das einzelne Korn kristalline Anteile enthält oder ob eine Mischung aus amorphen und kristallinen Partikeln vorliegt, wenn beide Komponenten nur gleich zugänglich sind.

Zuerst wurden dem amorphen Sorbens zunehmende Mengen an kristallinem Acetat zugemischt und die Belastung der Säulen durch Trögersche Base konstant gehalten.

Versuch I:

70g amorphes Triacetat, $90-56\mu$, steigende Mengen mikrokristallines Triacetat, $90-56\mu$, $L \cong 40\text{cm}$, $\emptyset_1 = 2,2\text{cm}$, Äthanol (15min 80°C), 150mg Trö. in 3ml, 20°C , 300ml/h.

<u>Zugemischte Menge</u>	<u>Art der Drehwinkelkurve</u>
0 g	Doppelkurve (+)/(-)
0,25g	Dreifachkurve (+)/(-)/(+)
1 g	"
3 g	Doppelkurve (-)/(+)
7 g	"

Das Versuchsergebnis läßt sich kurz durch folgende Tabelle ausdrücken (das Zeichen % steht für den Prozentgehalt des Sorbens an kristallinem Acetat):

0 = %	(+)/(-)
$0 < \% < 4,1$	(+)/(-)/(+)
$1,4\% \leq 100$	(-)/(+)

Diese Zusammenstellung läßt schon erkennen, daß die erste (+)-Welle einer Dreifachkurve durch amorphes, die zweite positive Welle durch kristallines Triacetat verursacht wird. Der Punkt, wo die erste (+)-Welle gerade verschwindet, kann leicht aufgefunden werden, wenn man bei konstanter Zumischung die dosierte Menge an Trögerscher Base variiert.

Versuch II:

70g amorphes + 5g kristallines Triacetat, $90-56\mu$, $L = 40\text{cm}$, $\emptyset_1 = 2,2\text{cm}$, Äthanol (15min 80°C), Trö. in 7ml, 20°C , 300ml/h.

Dosis: aufgegebene Menge an Trö. (stets in 7ml Äthanol).

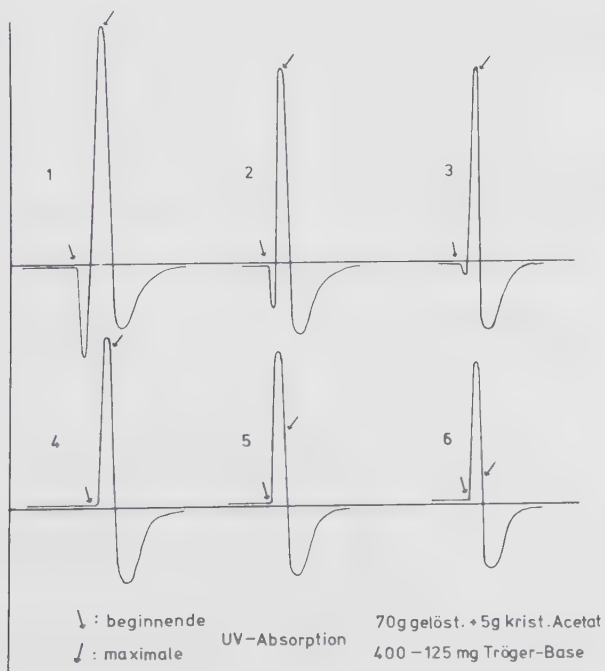
Die Werte für a, b, c (mg/%) zeigen die Verteilung der Base auf die Teilwellen des Drehwinkelchromatogramms.

a: 51/+ 8,8 bedeutet: 51mg in der ersten Pluswelle, Einzelanreicherung 8,8%.

$\bar{A}$ ist die Gesamtaktivierung, berechnet nach Formel Seite 33.

<u>Dosis(mg)</u>	<u>a(mg/%)</u>	<u>b(mg/%)</u>	<u>c(mg/%)</u>	<u>Ä(%)</u>
400	51/+8,8	236/- 6,9	54/+19,5	9,1
300	19/+2,3	185/- 7,0	55/+20,0	9,4
275	14/+0,8	148/- 7,7	61/+19,2	10,4
250	11/+0,1	137/- 8,0	62/+19,0	10,9
200	0	114/-10,0	58/+18,5	12,8
125	0	54/-16,4	58/+15,2	15,8

Die Skizzen zeigen die zugehörigen Drehwinkelchromatogramme (Reihenfolge wie in der Tabelle).



Die erste (+)-Welle tritt nur bei hoher Belastung auf. Bei Verringerung der Dosis nimmt die in der Teilwelle enthaltene Menge an Trögerscher Base ab; unterhalb der Belastung 250mg Trö./75g Mischsorbens beginnt die α -Kurve sofort mit (-)-Drehung.

Die Pfeile in den Skizzen zeigen den Beginn der UV-Absorption und ihr Maximum. Trennungen mit einer Anreicherung bis ca. 20% zeichnen sich durch exaktes Zusammenfallen von Konzentrationsmaximum und Drehwinkel-Nulldurchgang aus (Seite 27). Dieser Fall wird gerade bei Chromatogramm 6 erreicht. Bei höherer Belastung wandert das UV-Maximum bis zur Spitze der (-)-Welle.

Interessant ist vor allem Kurve 4 (250mg). Trotz einsetzen der Absorption zeigt der Drehwinkelschreiber keinen Ausschlag. Es wird zuerst fast reines Racemat eluiert (11mg/+0,1%).

Eine Dreifachkurve wird nur bei hoher Belastung oder, was gleichwertig ist, bei Anwesenheit geringster Mengen an kristallinen Anteilen beobachtet, deren Größe abgeschätzt werden kann durch Ermitteln der Dosis, die gerade keine erste Pluswelle mehr verursacht. Dann sind pro Milligramm Träger-Base 20 Milligramm kristallines Triacetat enthalten (unsere Versuchsbedingungen vorausgesetzt).

Diese Relation wurde durch mehrere Chromatogramme (verschiedene Zumischungen) bestätigt.

Eine Dreifachkurve entsteht nur, wenn die Sorption des (+)-Enantiomeren der Träger-Base (im folgenden mit (+)E abgekürzt) an kristallinem Triacetat energetisch oder kinetisch bedeutend günstiger ist als die Fixierung durch das amorphe Sorbens. Bei der Chromatographie werden sich dann die aktiven Zentren längs der Säule mit dem von ihnen stark sorbierten (+)E "sättigen" (Gleichgewicht). Der zuerst beobachtete Drehsinn hängt bei konstanter Zumischung nur von der Belastung der Säule ab.

Bei hoher Dosierung sind die kristallinen Anteile in allen Trennstufen gesättigt. Nun kann auch Sorption durch amorphes Acetat erfolgen, die für das (-)E spezifisch ist.

Die mobile Phase enthält dann (+)E im Überschuß, da das amorphe Sorbens zu mehr als 90% in der Mischung vorhanden ist. Besteht die Sättigung der kristallinen Komponente auch noch am Säulenende, so tritt zuerst angereichert (+)E aus, dann folgt das vom amorphen Acetat sorbierte (-)E und als Nachwelle schließlich das fest gebundene (+)E der kristallinen Beimengung.

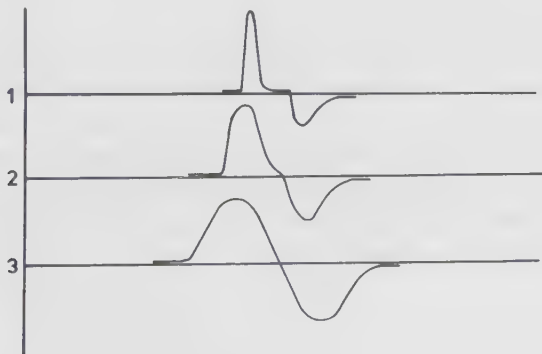
Bei geringerer Belastung wird gegen Säulenende einmal der Fall eintreten, daß der vorauslaufende (+)E-Überschuß der mobilen Phase in den letzten Trennstufen von noch freien aktiven Zentren vollkommen sorbiert wird. Die ersten eluierten Fraktionen enthalten somit Racemat, dann folgt die (-)/(+)-Doppelkurve der Trennung an kristallinem Acetat (keine zwei Peaks, da das Sorbens stark überlastet ist).

Bei weiterer Verringerung der dosierten Menge sind nur noch die Zentren der ersten theoretischen Böden gesättigt. Dann tritt eine normale Trennung an der kristallinen Komponente ein; die Anreicherung $\bar{A}$ steigt rasch bei abnehmender Belastung:

200mg: $\bar{A} = 12,8\%$, 125mg: $\bar{A} = 15,8\%$ (Tabelle Seite 75).

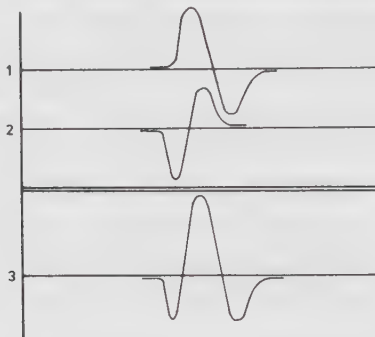
Eine Dreifachkurve kann als eine Überlagerung zweier Doppelkurven (zeitlich versetzt) mit entgegengesetztem Drehsinn verstanden werden.

Die folgenden Skizzen zeigen die Veränderung der Drehwinkelkurve einer vollständigen Trennung bei zunehmender Dosierung des Racemats.



Skizze 1 stellt das α -Chromatogramm der Trögerschen Base an kristallinem Triacetat bei einer normalen Belastung von ca. 0,3g/100g Sorbens dar. Bild 2 zeigt die α -Kurve bei zunehmender Belastung, Bild 3 bei starker Überbelastung (z.B. 3g/100g Sorbens). Der Durchbruch der Substanz erfolgt früher, der Gesamtpeak wird breiter.

Die nächsten Skizzen verdeutlichen die Entstehung einer Dreifachkurve aus zwei Einzelchromatogrammen:



Die erste Darstellung zeigt die Drehwinkelkurve der Träger-Base bei der Trennung an einer kleinen Menge von kristallinem Triacetat, das in einem inerten Material verteilt ist. Sie besitzt die Gestalt eines Chromatogramms bei hoher Überbelastung, ist aber sehr scharf.

Ähnlich, aber spiegelbildlich, verläuft die α -Kurve der Trögerschen Base an einer Säule mit reinem amorphem Acetat, da bei diesem Sorbens alle Substanzen schnell und scharf eluiert werden (Abschnitt 2.2.3.3.).

Bei einem Mischsorbens aus kristallinem und amorphem Triacetat wird die Lage der beiden Einzelkurven zueinander durch das Mischungsverhältnis und die Belastung bestimmt.

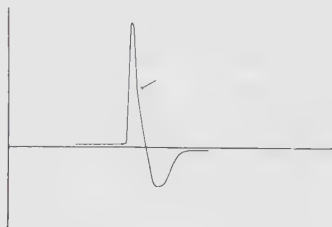
Je nach Versuchsbedingung zeigt das resultierende, vom Schreiber registrierte Drehwinkelchromatogramm eine Dreifachkurve (+)/(-)/(+) oder eine Doppelkurve (-)/(+) (wenn -2- von -1- überdeckt wird).

Dreifachkurven werden nur beobachtet, wenn die Spezifität der konkurrierenden Trennmechanismen bei Mischsorbenzien aus (wenig) kristallinem und amorphem Triacetat entgegengesetzt ist. Ist diese Bedingung nicht erfüllt, so besitzen die beiden Einzelkurven gleichen Drehsinn. Die resultierende Gesamtkurve kann aber Abweichungen von einer normalen Doppelkurve aufweisen.

Versuch:

70g amorphes + 3g mikrokristallines Triacetat, 90-56 μ , Äthanol (15min 80°C), L = 40cm, $\phi_1 = 2,2$ cm, 300mg 1,1-Phenyl-o-anisyläthan in 4ml, 20°C, 300ml/h.

Das Drehwinkelchromatogramm besitzt einen leichten Knick (Pfeil). Hier liegt auch das Konzentrationsmaximum des Eluats.



Zusammenfassung:

Bei der Chromatographie der Trögerschen Base an amorphem Cellulosetriacetat mit kristallinen Anteilen tritt stets eine letzte (+)-Welle auf, deren Größe von der Zumischung bestimmt wird. Die erste Pluswelle wird nur bei hohen Belastungen oder kleinen Beimengungen beobachtet. Schon bei einem Gehalt von ca. 5% überwiegt (bei üblichen Bedingungen) insgesamt die Sorption durch die aktiven Zentren des kristallinen Anteils; sie ist daher stark begünstigt.

2.2.3.3.2. Vergleich einiger Eigenschaften von kristallinem und amorphem Cellulosetriacetat

1.) Spektren

Die IR-Spektren verschiedener Triacetylcellulosen zeigen keinerlei Unterschiede.

2.) Chemische Eigenschaften

Das chemische Verhalten der beiden Präparate ist identisch. Der Acetylwert beträgt 45%, er ändert sich auch nach oftmaligem Auskochen, Chromatographieren und Trocknen nicht.

3.) Quellbarkeit

Amorphe Produkte quellen in Äthanol etwas schneller und stärker.

4.) Hygroskopisches Verhalten

Beide Pulver ziehen nach dem scharfen Trocknen (100°C, i.V.) aus feuchter Luft Wasser an, das sich im Exsikkator wieder vollständig entfernen läßt.

100g Pulver 90-56 μ (amorph oder kristallin) nehmen in Laborluft folgende Mengen Wasser auf (Gewichtsprozent):

<u>Zeit</u>	<u>%Wasser</u>
1h	0,85
2h	1,0
4h	1,8
12h	2,9

Feinere Pulver sind hygroskopischer.

5.) Zerfall in Benzol

Benzol quillt in amorphes und kristallines Triacetat bei 80°C gleich stark ein. In der Kälte wird das kristalline Pulver schneller angequollen, gleichzeitig zerfallen die Partikel teilweise. Geschwindigkeit und Ausmaß des Zerfalls sind abhängig von der Einwirkungszeit des Benzols, der Acetylierungsdauer, der Aufarbeitungsmethode (z.B. Zentrifugieren, Trocknungstemperatur...), der Vorbehandlung und der Korngröße.

Die folgende Tabelle enthält die bei der Einwirkung von Benzol auf kristallines (I) und amorphes (II) Triacetat (90-56 μ) entstandenen feinen Anteile (kleiner 56 μ), 20°C.

<u>Zeit</u>	<u>I(%)</u>	<u>II(%)</u>
3h	10,5	0
70h	15,5	1
700h	17,1	8

Die Partikel des kristallinen Sorptionsmittel zerfallen anfänglich bedeutend schneller als die (kompakteren) Teilchen des umgefällten Acetates. Dadurch wird die Verwendbarkeit von Benzol als Fließmittel eingeschränkt; die Säulenfüllung verdichtet sich nach kurzer Zeit (Absinken der Strömung). Benzol ist allerdings als Eluens für chromatographische Racemattrennungen wenig geeignet (Abschnitt 2.2.4.)

6.) Inklusionen

Cellulose und Cellulosenitrate können organische Moleküle so fest einlagern (inkludieren), daß diese selbst durch tagelanges Trocknen bei 80-100°C im Vakuum nicht vollständig entfernenbar sind ⁷²⁾. Wir überprüften unsere Cellulosetriacetate auf die Fähigkeit, Benzol und Cyclohexan zu inkludieren.

Die scharf getrockneten (120°C, i.V.) Präparate (90-56 μ) werden zuerst mit Äthanol vorgequollen, dann mehrmals in überschüssigem Benzol bzw. Cyclohexan erwärmt und in flachen Schalen bei 50°C aufbewahrt (Normaldruck).

Nach einigen Stunden sind die Pulver staubtrocken, 12h später ist kein Lösungsmittelgeruch mehr wahrnehmbar. Nach weiteren 24 bzw. 48 Stunden werden die Schalen gewogen (Feuchtigkeitszutritt vermeiden).

I = kristallines, II = amorphes Triacetat; inkludierte Menge in Prozent.

<u>Zeit</u>	<u>Benzol(I)</u>	<u>Benzol(II)</u>	<u>Cyclohex.(I)</u>	<u>Cyclohex.(II)</u>
24h	3,0	1,7	0,3	0,2
48h	1,6	0,9	0	0

Die inkludierten Lösungsmittel lassen sich bei 20°C im Vakuum nicht entfernen; bei 100°C Trocknungstemperatur wird keine Inklusion mehr beobachtet.

Kristallines Celluloseacetat sorbiert deutlich mehr Benzol als das amorphe Produkt.

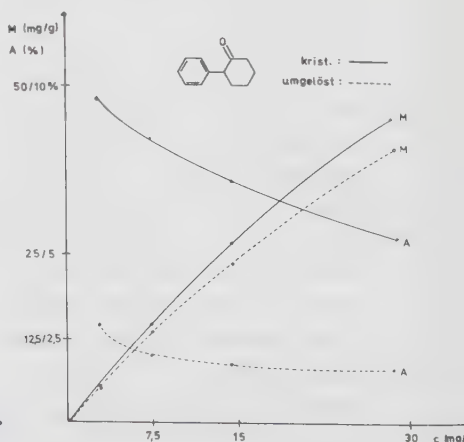
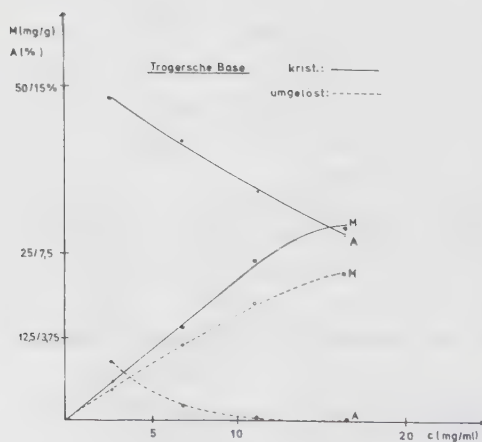
7.) Sorptionsisothermen

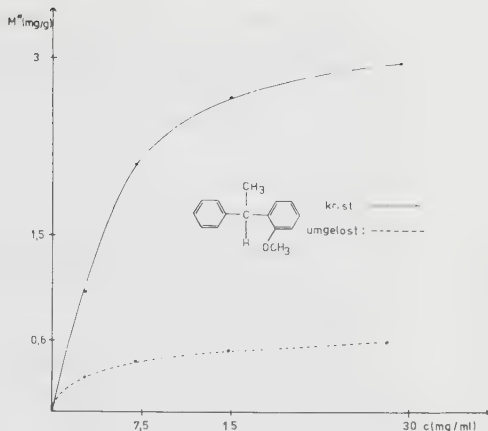
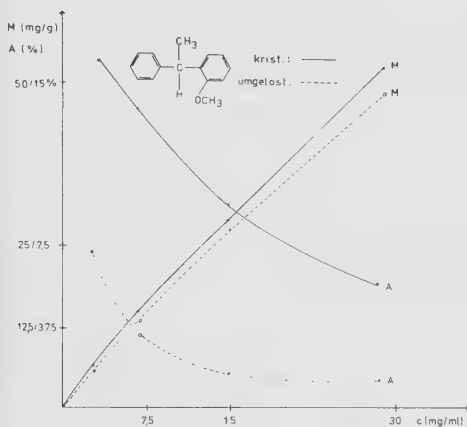
Sorptionskurven $M(A) \rightarrow c$ gestatten Aussagen über die Kapazität und Wirksamkeit eines Sorbens.

10g trockenes Cellulosetriacetat (90-56 μ) werden in 50ml Äthanol mit steigenden Mengen Racemat (R) 15min auf 80°C erwärmt. Nach dem Abkühlen wird filtriert, das Filtrat (35ml) eingedampft, die darin enthaltene Substanz (R-M) gewogen und vermessen. Aus deren Anreicherung läßt sich die Aktivierung (A) der sorbierten Menge (M) berechnen.

Die Diagramme zeigen die Sorptions- und Aktivierungskurven von kristallinem und amorphem Acetat (letztete gestrichelt) für drei gut spaltbare Verbindungen.

$\underline{c} = (R-M)/35$ in mg/ml, $\underline{M}$ in mg/g Sorbens, $\underline{A}$ in Prozent.





Diskussion:

Die Sorption von 2-Phenylcyclohexanon und 1,1-Phenyl-o-anisyläthan an beiden Sorbenzien nimmt bei steigender Konzentration fast linear zu. Es tritt noch keine Sättigung ein, da den Molekülen unter den Versuchsbedingungen genügend Sorptionsstellen (z.B. einzelne Glucoseeinheiten oder Acetylgruppen) zur Verfügung stehen (bei Trögerscher Base wird die Grenze der Löslichkeit in Äthanol erreicht).

Die Aktivierungen A sinken bei Konzentrationserhöhung rasch ab. Am amorphen Sorbens nähert sich A einem Grenzwert, d.h. die Größe von M^* (Enantiomerenüberschuß) nimmt mit der sorbierten Gesamtmenge M zu. Die viel besseren Aktivierungen an kristallinem Acetat verringern sich dagegen stetig.

Das Diagramm oben rechts zeigt den Verlauf von M^* für Phenyl-o-anisyläthan an beiden Sorbenzien. Bei kristallinem Acetat strebt die Kurve M^* einer Steigung zu, die der des amorphen Acetats gleicht. Dies kann durch zunehmende Sättigung der begrenzten Zahl an Nischen im kristallinen Sorbens gedeutet werden. Durch eine bestimmte Anordnung von mehreren Glucose-triacetat-Einheiten entstehen aktive Zentren (unser Modell fordert mindestens zwei Ringe), deren Anzahl daher kleiner ist als die der einfachen Sorptionsstellen im kristallinen

und amorphen Pulver. Die Struktur eines Zentrums, d.h. die Zahl der benötigten Glucoseeinheiten, läßt sich aus unseren Versuchen nicht ableiten:

- 1.) Der Sättigungszustand ist kaum zu erreichen (Löslichkeiten usw.).
- 2.) Es ist nicht bekannt, wie tief die Racematlösung in die Partikel eindringt.
- 3.) Die Sorption ist stets ein Gleichgewicht. Ein Großteil der Nischen wird vom Lösungsmittel, ein geringer Teil auch vom weniger günstigen Enantiomeren besetzt sein.

Die Versuchsergebnisse lassen aber die hohe Stereospezifität der Nischensorption erkennen.

Das kristalline Acetat sorbiert stets mehr Gesamtsubstanz als das amorphe. Die Differenz muß daher durch Struktureinheiten fixiert werden, die dem umgefällten Produkt fehlen. Das sind aber die aktiven Zentren.

Beispiel: 2-Phenylcyclohexanon, $c = 14,3 \text{ mg/ml}$

kristallin: $M = 26,8 \text{ mg/g}$, $A = 7,6\%$, $M^* = 2,03 \text{ mg/g}$

amorph: $M = 23,8 \text{ mg/g}$, $A = 1,8\%$, $M^* = 0,43 \text{ mg/g}$
 $\Delta M = 3,0 \text{ mg/g}$ $\Delta M^* = 1,60 \text{ mg/g}$

Von 3mg sind 1,6mg reines (-)-Enantiomeres, d.h. es werden zusätzlich 2,3mg (-)E und 0,7mg (+)E sorbiert.

Die chromatographische Überlegenheit der kristallinen Triacetylcellulose beruht auf der sehr spezifischen Sorption eines Enantiomeren in den Nischen. Die Hauptmenge der gebundenen Substanz besteht natürlich aus Racemat. Im oberen Beispiel (krist.) setzt sich M aus 24,77mg (+/-)E und nur 2,03 mg (-)E zusammen. Für die Deutung spezieller Effekte wie Dreifachkurven genügt aber die Betrachtung des jeweiligen Enantiomerenüberschusses.

Die erhöhte Sorption eines Antipoden beruht auf einer größeren Stabilität seines diastereomeren Sorbats. Eine vollständige Enantiomerentrennung gelingt nur beim Durchlaufen einer Säule, da dann viele dieser einstufigen Trennprozesse aufeinanderfolgen.

2.2.3.3. Aktivierungen und Retentionen an kristallinem und amorphem Cellulosetriacetat

An Säulen mit den beiden Sorbenzien wurde eine Reihe von Racematen auf Spaltbarkeit geprüft.

Versuchsbedingungen:

140g Sorbens, 90-56 μ , L = 40cm, $\phi_1 = 3,1$ cm, Äthanol 95% (15min 80°C), 250mg Racemat in 3 (-5)ml, 20°C (bei vollständigen Trennungen Temperaturprogramm; V_r auf 20°C zurückgerechnet), 300ml/h.

V_r in Fraktionen zu 25ml, $\bar{A}$ in Prozent oder als $[\bar{\alpha}]_{435}^{25}(\text{CHCl}_3)$, bei einigen Proben kürzere Wellenlängen. Das Vorzeichen von $\bar{A}$ gibt den Drehsinn der ersten Halbwelle des α -Chromatogramms an.

<u>Substanz</u>	<u>mikrokrist.</u>		<u>amorph</u>	
	V_r	$\bar{A}$	V_r	$\bar{A}$
Trögersche Base	19	-100%	9	+10%
	45	+100%		
2-Phenylcyclohexanon	13	+100%	10	+45%
	33	-100%		
2,5-Dibromhydrochinon-decamethylenäther	7	+100%	6	+ 6%
	15	-100%		
1-Phenyl-1-anisyläthan ortho	19	-100%	9	-35%
	50	+100%		
meta	17	-10,1°	9	-2,0°
para	15	-34,0°	9	-7,9°
1-Phenyl-1-anisyläthanol ortho	17	+120°	8	+14,2°
	11	- 4,6°		
meta	11	- 4,6°	8	+ 0,6°
para	9	+ 6,3°	8	+ 1,9°

Fortsetzung der Tabelle:

<u>Substanz</u>	<u>mikrokrist.</u>		<u>amorph</u>		
	V_r	$\bar{A}$	V_r	$\bar{A}$	
Tropasäure	6	+ 7,1%	6	+ 6,4%	
Atrolactinsäure	7	+ 7,5%	6	+ 4,7%	
Mandelsäure	7	+ 3,8%	6	+ 3,6%	
Mandelsäuremethylester	9	+39,0°	7	+22,1°	
Mandelsäureäthylester	7	+24,6°	7	+19,5°	
Mandelsäure-tert.-butyl- ester	6	-25,8°	5	+ 3,3°	
2-Cyclohexylcyclohexanon	5	+81,4°	4	+11,2°	
2-Cyclohexylcycloheptanon	4	+24,0°	4	+ 4,8°	
5-Phenylnorbornen	8	-210°	6	-15,1°	
2-Phenylnorbornan	7	+31,0°	6	+ 3,1°	
2,2'-Dimethyl-1,1'-dinaph- thyl	7	+44,0°	7	+ 1,2°	
1,1'-Dinaphthyl	16	+	8	0	X1
Methyl-tert.-butyl-phenyl- benzylphosphoniumchlorid	3	- 1,8°	3	- 0,3°	X2
1-Methyliden-2-phenylcyclo- hexan	9	-10,2°	6	- 7,6°	
sec.-Butylbenzol	9	+20,0°	5	0	X3

X1: Aktivierung wurde anhand der Drehwinkelkurve nachgewiesen.

X2: $\bar{A}$ als $[\alpha]_D^{25}$ (Methanol), X3: $\bar{A}$ als $[\alpha]_{365}^{25}$ (Äthanol).

Trögersche Base, 1-Phenyl-1-m-anisyläthanol und Mandelsäure-tert.-butylester zeigen bei gleichem Lösungsmittel (Äthanol) an kristallinem und amorphem Triacetat eine Umkehr des Dreh-
sinns der ersten α -Welle.

Die bei der Trennung an kristallinem Acetat aus der "sterischen Reihe fallenden" Racemate werden am amorphen Produkt wie ihre Verwandten sorbiert:

<u>Mandelsäureester</u>	<u>krist.</u>	<u>amorph</u>
methyl	+	+
äthyl	+	+
isopropyl	+	+
tert.-butyl	-	+

Das Vorzeichen gibt den Drehsinn der ersten α -Welle an.

<u>Phenylanisyläthanol</u>	<u>krist.</u>	<u>amorph</u>
ortho	+	+
meta	-	+
para	+	+

Die höheren Aktivierungen $\bar{A}$ der Verbindungen mit Drehsinnumkehr durch kristallines Triacetat zeigen nochmals die energetische oder kinetische Überlegenheit der Nischensorption. Der auch im kristallinen Sorbens stets zur Verfügung stehende, konträre Trennmechanismus des amorphen Produkts wird nicht wirksam, da eine Sättigung der Zentren bei den Versuchsbedingungen nicht erreicht wird.

Die Tabelle zeigt, daß Anreicherungen und Retentionen an kristallinem Cellulosetriacetat niemals geringer sind als am umgelösten Sorbens.

In den seltenen Fällen einer Drehsinnumkehr durch Lösungsmittelvariation lassen sich jedoch Fließmittelgemische finden, die bei kristalliner Acetylcellulose die Anreicherung -Null- bewirken. Die Aktivierung durch das amorphe Sorbens ist dann natürlich größer.

<u>Trögersche Base</u>	<u>krist.</u>	<u>amorph</u>
Äthanol	-	+
Benzol	+	+
Cyclohexan	+	+

<u>Lösungsmittel</u>	<u>Mandelsäure</u> krist./amorph		<u>Atrolactinsäure</u> krist./amorph	
Äthanol	+	+	+	+
Isopropanol	-	+	+	+
Diäthyläther	-	+	-	+

Ein Gemisch Äthanol:Benzol $\cong$ 9:1 eluiert die Träger-Base an kristallinem Acetat mit einem $\bar{A} = 0$, an der amorphen Acetylcellulose dagegen mit $\bar{A} = 12\%$.

Mandelsäure: z.B.: Äther + 20% Methanol;
krist.: $\bar{A} = 0$, amorph: $\bar{A} = 2,1\%$.

Die Ursachen der Drehsinnumkehr (und Nullaktivierung) bei einem Eluenswechsel sind allerdings verschiedener Art. Bei Mandelsäure werden Assoziationsgleichgewichte beeinflusst, bei Trägerscher Base jedoch die Nischen blockiert (durch Benzol).

Zusammenfassung:

Vollständige Trennungen (bei einem Durchlauf) gelingen nur am kristallinen Sorbens, das in den meisten Fällen (z.T. bedeutend) höhere Retentionen zeigt.

Bei der chromatographischen Racematspaltung an (krist.) Cellulosetriacetat sind Phenyl- und Carbonylgruppen als besonders wirksame Reste anzusehen.

2-Phenylcyclohexanon, das mit Sicherheit nur Zweipunkt-Kontakte ausbilden kann, wird am kristallinen Acetat vollständig, am amorphen zu 45% getrennt. Gleiches gilt für das 1,1-Phenyl-o-anisyläthan (100%/35%).

Die am kristallinen Sorbens zu 100% aktivierbaren Racemate mit großen Molekülen (Trägersche Base und Ansaverbindung) werden am umgefällten Präparat schlecht angereichert (10% bzw. 6%).

Substanzen mit einer (chromatographisch) funktionellen Gruppe (z.B. 2-Cyclohexylcyclohexanon, 2-Phenylbornan, sec.-Butylbenzol) lassen sich nur durch das kristalline Sorptionsmittel deutlich aktivieren.

Die Dreipunktregel von Dalgliesh besitzt daher (selbst für amorphes) Cellulosetriacetat keine Gültigkeit. Am kristallinen Sorbens gelingt sogar die Aktivierung eines reinen aliphatischen Kohlenwasserstoffs (2-Cyclohexylnorbornan, Abschnitt 2.3.).

Die Enantiomerentrennung durch "Nischensorption" bedarf keiner besonderen funktionellen Gruppen; entscheidend sind (etwa wie bei den Einschlußverbindungen der Cyclodextrine) sterische Faktoren. Die Anwesenheit eines chromatographisch wirksamen Restes kann aber die Ausbeute an getrennten Antipoden sehr verbessern:

2-Phenylcyclohexanon wird vollständig, 1-Methyliden-2-phenylcyclohexan oder 2-Phenylcyclohexanol dagegen schlecht gespalten.

Die Einflüsse verschiedener Substituenten auf den Aktivierungsgrad bei chromatographischen Racemattrennungen werden in Abschnitt 2.3 diskutiert.

Wir versuchten, die Struktur der Sorptionszentren in kristallinem Triacetat aus dem Retentionsverhalten von aromatischen Verbindungen abzuleiten.

Versuchsbedingungen:

Säulen von Seite 85, Äthanol 95% (15min 80°C), 250mg Substanz oder 5ml gesättigte Lösung (bei schwerlöslichen Proben), 20°C, bei stark retenierten Aromaten 40°C (V_r auf 20°C zurückgerechnet, angemerkt durch '), 300ml/h.

V_r in Fraktionen zu 25ml, bei vollständigen Trennungen als Mittelwert angegeben.

<u>Substanz</u>	V_r	
	<u>mikrokrist.</u>	<u>amorph</u>
Benzol	27	7
Toluol	21	7
Äthylbenzol	10	6
Cumol	9	6
sec.-Butylbenzol	9	5
5-Phenylnorbornen	8	6
2-Phenylnorbornan	7	6

Fortsetzung der Tabelle:

<u>Substanz</u>	<u>mikrokrist.</u>	<u>amorph</u>
Xylol ortho	15	6
meta	9	6
para	8	6
Mesitylen	6	6
Durol	7	6
Hexamethylbenzol	8	6
Diphenyl	22	10
1,2.3,4-Dibenzocycloheptadien	25	10
Naphthalin	42	9
1-Methylnaphthalin	17	8
2-Methylnaphthalin	15	7
Anthracen	31	14
Phenanthren	55'	14
1,1'-Dinaphthyl	16	8
2,2'-Dimethyl-1,1'-dinaphthyl	7	7
1,2.3,4-Dibenzoanthracen	33'	19
5,6,11,12-Tetraphenylnaphthacen	13'	8
Benzoessäure	7	6
Phenyllessigsäure	9	6
Mandelsäure	7	6
Atrolactinsäure	7	6
Tropasäure	6	6
Mandelsäuremethylester	9	7
Mandelsäureäthylester	7	7
Mandelsäure-tert.-butylester	6	5
2-Phenylcyclohexanon	23'	10
2-Phenylcyclohexanol	6	6
2-Cyclohexylcyclohexanon	5	4
Acetophenon	18	9
Benzaldehyd	20	9
Anisol	18	8
Nitrobenzol	16	12

Fortsetzung der Tabelle:

<u>Substanz</u>		<u>mikrokrist.</u>	<u>amorph</u>
Anilin		17	10
N-Methylanilin		15	9
N,N-Dimethylanilin		12	8
N,N-Diäthylanilin		8	6
Fluorbenzol		19	7
Chlorbenzol		27	7
Brombenzol		24	7
Jodbenzol		19	7
Phenylendiamin	ortho	∞	15
	meta	∞	13
	para	∞	13
Nitrophenol	ortho	24	13
	meta	8	8
	para	7	7
Dichlorbenzol	ortho	21	7
	meta	11	7
	para	10	7
Dihydroxybenzol	ortho	17	7
	meta	7	6
	para	6	6
1,1-Phenylanisyläthan	ortho	34'	9
	meta	17	9
	para	15	9
1,1-Phenylanisyläthylbromid	ortho	27	9
	meta	17	9
	para	15	9
1,1-Phenylanisyläthanol	ortho	17	8
	meta	11	8
	para	9	8
°			
Methyl-tert.-butyl-phenyl-benzyl-			
phosphoniumchlorid		3	3
Benzophenon		26	13

Fortsetzung der Tabelle:

<u>Substanz</u>	<u>mikrokrist.</u>	<u>amorph</u>
Trögersche Base	32'	9
3,4.5,6-Dibenzo-thia-cyclo-heptadien	45	14
Diphensäuredimethylester	19	9
2,2'-Di(brommethyl)diphenyl	33	11
Pyridin	7	7
Chinolin	10	6

Während die Höhe einer theoretischen Trennstufe (HTS) der Säule mit amorphem Acetat stets 2-4mm beträgt (90-56 μ), zeigen die Werte an kristalliner Acetylcellulose starke Schwankungen. Die folgende Tabelle enthält V_r und HTS für einige Verbindungen mit einem Benzolkern (UV-Signal im linearen Bereich des Detektors) bei der Chromatographie an der Säule von Seite 85 (mikrokrist., 90-56 μ , 20°C).

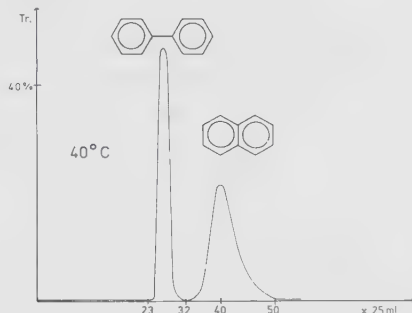
<u>Substanz</u>		<u>V_r(25ml)</u>	<u>HTS(mm)</u>
Benzol		27	25
Toluol		21	11
Äthylbenzol		10	6
2-Phenylnorbornan		7	5
Mesitylen		6	3,5
Chlorbenzol		27	16
Xylol	ortho	15	8,8
	meta	9	7
	para	8	7
Dichlorbenzol	ortho	21	10,6
	meta	11	7
	para	10	7
Dihydroxybenzol	ortho	17	17,5
	meta	7	4
	para	6	4

In den allermeisten Fällen werden Gemische nach den Retentionsunterschieden der Komponenten getrennt.

Beispiele:

1.) Diphenyl/Naphthalin

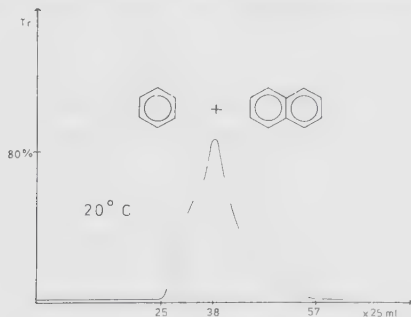
Standardsäule, mikrokrist., 90-56 μ , Athanol, 50mg Gemisch in 3ml, 40°C, 300ml/h.



2.) Xylole (Seite 53)

Ein Gegenbeispiel liegt im System Benzol/Naphthalin vor.

Säule wie oben, 150mg Benzol + 50mg Naphthalin, 20°C, 300ml/h.



Das Gemisch ergibt einen stark unsymmetrischen Gesamtpeak. Die vordere Schulter wird von Benzol verursacht; noch vor Erreichen des Maximums (38 Fr.) tritt Naphthalingeruch auf. Benzol scheint das Naphthalin mitzuschleppen, da dieses (einzeln) ein V_{dr} von 47 Fraktionen besitzt (20°C, 250mg). Kleinere Mengen werden noch stärker retiniert.

Diskussion der Retentionswerte:

1.) Höhere Aromaten

Bei zunehmender Kondensation nimmt die Retention an Celluloseacetaten (amorph oder kristallin, teil- oder peracetyliert) generell zu. Dies gilt natürlich auch für unser amorphes Triacetat.

Einkernige Aromaten:	$V_r = 5-7$	(Benzol, Toluol, Xylol)
Zweikernig	: $V_r = 7-10$	(Diphenyl, Naphthalin)
Dreikernig	: $V_r = 14$	(Anthracen, Phenanthren)
Fünfkernig	: $V_r = 19$	(Dibenzoanthracen)

Die Sorption kann durch "Auflegen" der Aromaten auf bestimmte Abschnitte der einzelnen Kettenmoleküle erfolgen; eine planare Struktur ist dabei vorteilhaft. Das nichtebene Dinaphthyl und das noch stärker verdrehte Dimethyldinaphthyl werden trotz ihrer vier Kerne schwächer reteniert als z.B. Naphthalin.

An kristallinem Triacetat sind die Retentionswerte meist bedeutend höher. Planare Moleküle diffundieren leicht in die Zwischenräume der parallelen Ketten; die Sorption erfolgt dann doppelseitig. Eine verdrillte Konformation der Ringe wirkt nachteilig auf die Retention, da das Eindringen ins Gel erschwert wird; für eine Enantiomerentrennung werden gerade in diesen Fällen sterische Faktoren ausschlaggebend sein: Dinaphthyl und Dimethyldinaphthyl lassen sich nur an kristallinem Acetat (deutlich) aktivieren.

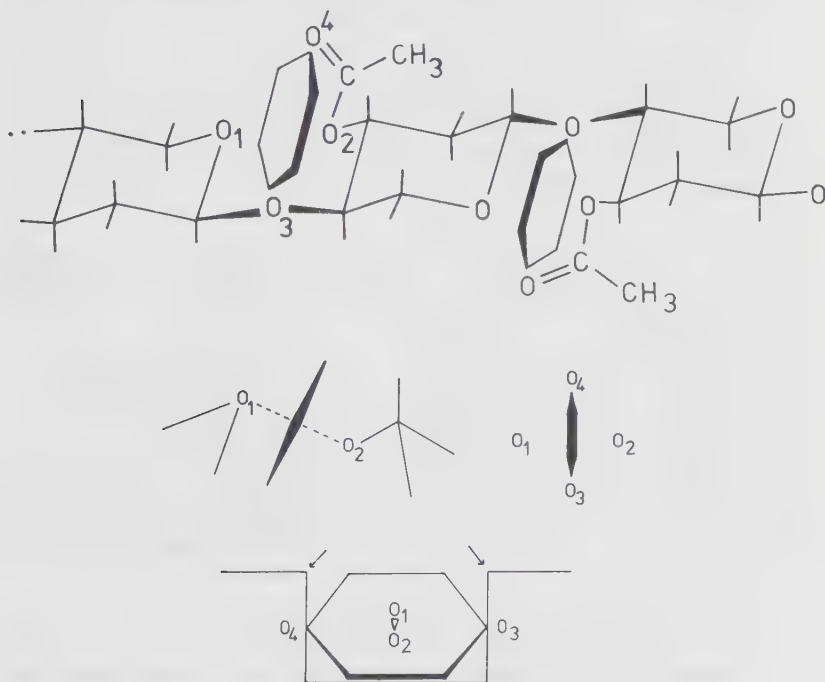
Die extrem hohe Retention des Phenanthrens ($V_r = 55$, Anthracen: $V_r = 31$) und die schnelle Elution der Methylnaphthaline (verglichen mit Naphthalin) am kristallinen Sorbens sind allerdings durch das bisherige Sorptionsmodell für Aromaten kaum zu erklären.

Zur Deutung muß das Verhalten der ortho-di-substituierten Benzolderivate diskutiert werden.

2.) Benzol und seine Monoalkylderivate

An amorphem Triacetat werden die Proben schnell eluiert:

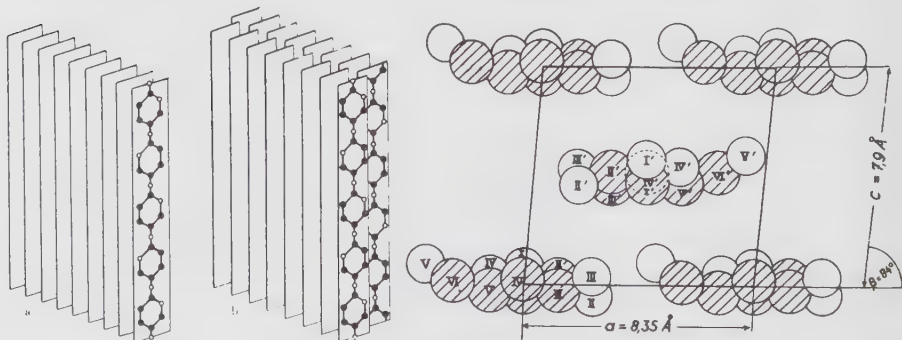
$V_r = 6-7$. Auffällig ist die sehr hohe Retention des unsubstituierten Benzols am kristallinen Sorbens ($V_r = 27$) unter starker Peakverbreiterung (HTS = 25mm!), die zeigt, daß der Aromat nach dem Eindringen in das Innere der Matrix passende Struktureinheiten findet, die einem umgelösten Produkt fehlen. Ein Baukastenmodell eines Kettenmoleküls der nativen Acetylcellulose läßt Sorptionsstellen erkennen, die gerade für Benzol richtig dimensioniert sind:



Diese "Nische" wird durch die Sauerstoffatome $O_{1,2,3,4}$ gebildet; die Sorption kann als Wechselwirkung der Elektronenwolken von $O_{1,2}$ mit den Orbitalen des Aromaten und (zusätzliche) Dipolbindung zwischen $O_{3,4}$ und mesomeren Formen des Kerns gedeutet werden.

In amorphem Triacetat ist die maximale Streckung der Ketten aufgehoben; die Moleküle sind verdrillt und verknäuelst, so daß die wenigen noch bestehenden Nischen schwer zugänglich werden. Zusätzlich nehmen die restlichen Acetylgruppen nur im kristallinen Produkt eine regelmäßige Anordnung ein, die eine unbehinderte Diffusion gewährleistet.

Die heterogene Acetylierung zeichnet sich durch den Erhalt der natürlichen Gitterstruktur aus. Die Lage der Kettenmoleküle zueinander wird kaum verändert, die Netzebenenabstände jedoch aufgeweitet. Die folgenden Modelle von Faser ⁵²⁾ und Elementarkörper ⁵¹⁾ der Cellulose zeigen, daß in benachbarten Ketten der kristallinen Bereiche von Cellulose-triacetat Molekeln mit mehreren aromatischen Ringen zwei oder mehr Nischen, einkernigen Aromaten mit zusätzlichen chromatographisch funktionellen Gruppen eine Nische und weitere Fixierungspunkte zur Verfügung stehen können.



Ein chromatographisch wirksames Zentrum wird durch die Gesamtordnung in der Elementarzelle der kristallinen Triacetylcellulose gebildet.

Ob ein Molekül mehrfach gebunden wird, ist von seiner Größe, seiner Struktur und der Art der Gruppen abhängig.

Für Racematspaltungen genügt bereits ein einziger Benzolkern, der aber nicht einmal erforderlich ist (z.B. Cyclohexylcyclohexanon, Cyclohexylnorbornan).

Das Retentionsverhalten von Monoalkylbenzolen bei der Nischen-sorption durch kristallines Acetat kann leicht gedeutet werden. Während Benzol ($V_r = 27$) bei allen Auftreffrichtungen in die Nische eindiffundieren wird, ist Toluol ($V_r = 21$) seiner Methylgruppe wegen bereits leicht behindert.

Bei größeren Substituenten sinken die Retentionsvolumina rasch ab (Äthylbenzol: $V_r = 10$), da das Passieren der Acetylgruppen der Gitterzwischenräume durch sperrige Reste erschwert wird. Bei racemischen Proben kann die Konfiguration der Moleküle Einfluß auf deren Diffusionsgeschwindigkeiten durch eine chirale Umgebung und auf die Nischen-Sorptionsenthalpien besitzen:

2-Phenylnorbornan und 2-Phenylbutan werden an kristallinem Triacetat gut aktiviert ($V_r = 7$ bzw. 9).

Nur wenn das Molekül weitere sorptive Gruppen enthält, kann das Retentionsvolumen hohe Werte annehmen (z.B. 2-Phenylcyclohexanon: $V_r = 23$); der "Hauptanker" ist aber der aromatische Ring, da die analogen Cyclohexylverbindungen schnell eluiert werden (z.B. 2-Cyclohexylcyclohexanon: $V_r = 5$).

In diesem Zusammenhang stellt sich die Frage, welche Beschaffenheit die für eine chromatographische Racemattrennung erforderlichen optisch aktiven Strukturen oder Gruppen des Cellulosetriacetates besitzen.

Im amorphen Sorbens sind die fünf asymmetrischen Kohlenstoffatome einer Pyranose-Einheit die einzigen Träger der optischen Aktivität. Bei der Sorption werden sich konfigurations Einflüsse nur schwach bemerkbar machen, da die Sorbatmolekeln locker aufliegen.

Im kristallinen Sorbens wird dieser Mechanismus kaum wirksam, hier erfolgt (soweit möglich) Nischensorption (vgl. Dreifachkurven). Die definierte Anordnung der Ketten und Acetylgruppen im kristallinen Cellulosetriacetat (die Ausbildung aktiver Zentren) muß als eine Art Molekular-Dis-symmetrie angesehen werden, die für die kristallisierten Bereiche charakteristisch ist.

Die Retention der Monoalkylbenzole läßt sich rein formell durch die Stärke der Nischensorption deuten. Bei zunehmender Sperrigkeit des Substituenten wird die Nische flacher, die Bindung labiler. Die Betrachtung der "Eintauchtiefe" leistet bei der Diskussion der Retentionswerte von disubstituierten Benzolderivaten wertvolle Hilfe.

3.) Disubstituierte Benzolderivate

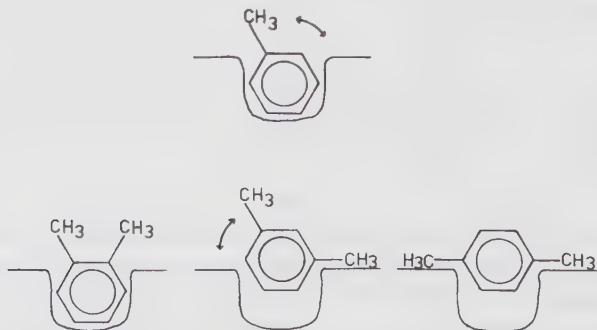
Die Tabelle von Seite 89 zeigt, daß alle ortho-Verbindungen an kristallinem Triacetat bedeutend stärker reteniert werden als die entsprechenden meta- und para-Isomeren.

Die meta-Verbindungen wiederum besitzen etwas größere V_r -Werte als die schnell eluierten para-Derivate.

Nitroverbindungen, Amine, Ketone und andere Aromaten mit echten funktionellen Gruppen werden an amorphem Acetat stärker reteniert als Alkyl- oder Halogenbenzole ($V_r = 6-7$).

Die Deutung ihrer V_r -Werte am kristallinen Sorbens muß daher den Einfluß von Dipolbindungen oder H-Brücken zwischen den Resten und den Acetyl- oder Äthergruppen der Matrix berücksichtigen, der kaum überschaubar ist.

Einfacher dagegen läßt sich die Retention der isomeren Xylole (u.a. der Dichlorbenzole) erklären; sie wird durch die Eintauchtiefe des aromatischen Rings in die Nische bestimmt.



Die Nische ist für unsubstituiertes Benzol gerade frei zugänglich. Als Maß der Sorptionsstärke kann die Anzahl der Wasserstoffatome dienen, mit denen der Kern eintaucht. Benzol: 6H, in der Nische beweglich.

Eine Methylgruppe verhindert die vollständige Sorption. Toluol taucht mit 4H ein, ist jedoch leicht beweglich (in Pfeilrichtung); im Mittel deshalb 5H.

o-Xylol: 4H

m-Xylol: 2H, geringfügig beweglich, daher >2H.

p-Xylol: 2H

Vergleicht man die Retentionen V_r mit der Anzahl H der in die Nische eintauchenden Wasserstoffatome, so zeigen die Quotienten $V_r:H$ unter Berücksichtigung einer Fehlergrenze von $\pm 0,5$ Fraktionen eine gute Übereinstimmung:

<u>Substanz</u>	<u>V_r</u>	<u>H</u>	<u>$V_r:H$</u>
Benzol	27	6	4,5
Toluol	21	5	4,2
Xylol o-	15	4	3,8
m-	9	> 2	≈ 4
p-	8	2	4

Benzol wird nach $V_r:H$ etwas stärker retiniert, da Methylgruppen die Diffusion durch das Gel zu den Nischen leicht behindern; das gilt abgeschwächt auch für Toluol.

Bei Halogenbenzolen lassen sich ähnliche Zusammenhänge finden:

<u>Substanz</u>	<u>V_r</u>	<u>H</u>	<u>$V_r:H$</u>
Chlorbenzol	27	5	5,4
Dichlorbenzol o-	21	4	5,3
m-	11	> 2	≈ 5
p-	10	2	5

Die Retentionsstärke $V_r:H$ ist hier größer als bei den Methylbenzolen, da durch $O_{3,4}$ eine zusätzliche Fixierung mesomerer Formen des Kerns erfolgen kann.

Kristallines Cellulosetriacetat verhält sich genau konträr zu den nematischen und smektischen Phasen (Flüssigkristalle) der Gaschromatographie; diese retardieren das p-Isomere bevorzugt.

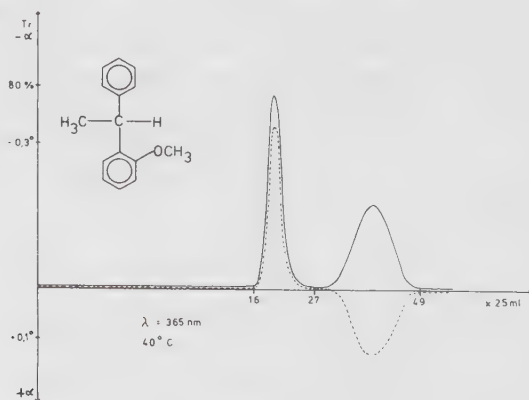
Die hohen Retentionen von Naphthalin, Anthracen und Phenanthren können durch ihre Sorption als "doppeltes, orthosubstituiertes Benzol" gedeutet werden. Phenanthren ($V_r = 55!$) wird wahrscheinlich an Ring 3 in der Mische einer (versetzten) benachbarten Kette zusätzlich gebunden. Bei höheren Aromaten konkurriert aber bereits die Sorption durch amorphes Acetat.

Die starke Retention des Benzolkerns kann durch herkömmliche Adsorptionsmechanismen nicht beschrieben werden. Wir bezeichnen die Trennungen an kristallinem Cellulosetriacetat daher als "Inklusionschromatographie".

Ein überzeugendes Beispiel ist die Spaltung von racemischen 1-Phenyl-1-o-anisyläthan.

Versuch:

Standardsäule, mikrokrist. Triacetat, 90-56 μ , Äthanol, 250mg Racemat in 3ml, 40°C isotherm, 300ml/h.



Dieses Beispiel stellt die beste von uns gefundene Racematentrennung dar. Von Beginn an muß bei erhöhter Temperatur gearbeitet werden; die Enantiomerenpeaks liegen weit auseinander. Die Bedeutung der ortho-Substitution wird hier besonders augenfällig. Die entsprechenden m- und p-Isomeren zeigen nur geringe Retentionen und Aktivierungen.

Eine zusätzliche funktionelle Gruppe im Molekül verhindert die vollständige Trennung der Antipoden; von den 1,1-Phenyl-anisyläthanolan läßt sich nur das ortho-Isomere deutlich aktivieren.

Die Hydroxylgruppe erweist sich, ebenso wie die Carboxylgruppe, als inklusionsfeindlich. 2-Phenylcyclohexanol wird rasch eluiert ($V_r = 6$), Carbonsäuren besitzen an kristallinem und amorphem Triacetat etwa gleiche Werte für V_r und $\bar{A}$.

Vielleicht verhindert die Ausbildung von H-Brücken zu den Acetatresten der Matrix die Diffusion in die Nischen.

Zusammenfassung:

Struktureinheiten des kristallinen Cellulosetriacetates zeigen für den Benzolkern eine besondere Affinität (Pyridin wird schnell eluiert). Das Retentionsverhalten bei der "Inklusionschromatographie" wird hauptsächlich von sterischen Faktoren, weniger von der Elektronendichte des Benzolringes bestimmt:

Anisol: $V_r = 18$, Toluol: $V_r = 21$, Benzol: $V_r = 27$, Nitrobenzol: $V_r = 16$; Brenzcatechin: $V_r = 17$, Hydrochinon: $V_r = 6$.

Während die Sorption von Verbindungen mit Carbonyl-, Amino- und Nitrogruppen mehrdeutig ist, kann die Retention einkerniger Kohlenwasserstoffe durch die Eintauchtiefe in die Nischen erklärt werden.

Alle (getesteten) ortho-Derivate werden stärker retardiert als ihre m- und p-Isomeren.

Moleküle mit mehreren Benzolkernen können an benachbarten Ketten weitere Fixierungspunkte finden; entscheidend ist ihre Größe: Benzophenon ($V_r = 26$) und das Phosphoniumsalz ($V_r = 3$) besitzen je zwei gleichwertige Aromaten.

Zusätzlich sind die Einflüsse von Substituenten zu berücksichtigen (z.B.: Dibenzocycloheptadien $V_r = 25$, Dibenzothia-cycloheptadien $V_r = 45$).

Nach dem Umlösen zeigt Cellulosetriacetat keine besondere chromatographische Wirksamkeit mehr; V_r überschreitet kaum den Wert 10, die erzielten Racemataktivierungen sind niemals besser (Äthanol), in den meisten Fällen wesentlich niedriger als am kristallinen Sorbens.

2.2.4. Die Optimierung von Racematspaltungen an kristallinem Cellulosetriacetat

2.2.4.1. Lösungsmittelvariation

Als Fließmittel sind verwendbar:

aliphatische und aromatische Kohlenwasserstoffe, Diäthyl- und Diisopropyläther (nicht THF), sämtliche Alkohole und Wasser sowie alle möglichen Mischungen.

Die Löslichkeit der Acetylcellulose in diesen Flüssigkeiten ist gering; z.B. Äthanol: 50°C 215mg/L, 20°C 18mg/L.

Die geringe spezifische Drehung des Cellulosetriacetats garantiert zusätzlich, daß Spuren des gelösten Sorbens eine Messung nicht verfälschen.

<u>Wellenlänge λ (nm)</u>	<u>$[\alpha]_{\lambda}^{25}$</u>	
589	-18,5°	
578	-18,8°	Chloroform
546	-21,3°	c = 1,0 (g/100ml)
435	-39,1°	
365	-66,0°	

In Aceton ist die spezifische Drehung viel geringer:

$$[\alpha]_{365}^{25} = -14,2^{\circ} \quad (c = 1,0)$$

Die Darstellung der Proben erfolgte nach unserer Standardvorschrift (3 Tage). K. Hess fand etwas höhere Werte ⁷³⁾:

$$[\alpha]_{589} = -19,5 \text{ bis } -22,6^{\circ} \quad (\text{Chloroform})$$

Die eluotrope Wirkung eines Lösungsmittels läßt sich rasch durch Dünnschichtchromatographie bestimmen (vgl. Seite 43). Für die Anwendung bei der Säulenchromatographie ist ein Vorquellen des trockenen Sorbens in heißem Äthanol und der Fließmittelaustausch außerhalb der Säule optimal.

Die eluotrope Reihe für (polare) Adsorbenzien wie Aluminiumoxid oder Kieselgel beginnt mit n-Hexan (eluiert sehr schwach) und endet bei stark polaren Verbindungen (Wasser, DMF, Tetramur...); für (hydrophobe) "umgekehrte Phasen" verläuft die

Reihe entgegengesetzt. Die Stellung der Triacetylcellulose in der Vielfalt der Sorbenzien kann nicht durch die Ermittlung einer eluotropen Folge bestimmt werden:

- 1.) Aliphatische Kohlenwasserstoffe eluieren meist schwach (Trögersche Base, Phenylcyclohexanon); Dimethyldinaphthyl wird jedoch kaum reteniert.
- 2.) Benzol wirkt stets äußerst stark eluierend.
- 3.) Äthanol desorbiert etwa wie Diäthyläther, Isopropanol wie Diisopropyläther.
- 4.) Die Retentionen in Wasser sind größer als in Alkoholen. Salze wandern schnell, Carbonsäuren und chinoide Farbstoffe sehr langsam.

Die Elutionswirkung eines Lösungsmittels ist daher weniger von seiner Polarität als von der Struktur des Sorbats abhängig.

I.) Aliphatische Kohlenwasserstoffe

Säule: ca. 90g mikrokrist. Triacetat, 90-56 μ , in Äthanol (15min 80°C) vorgequollen, Fließmittelaustausch außerhalb der Säule, L = 40cm (Betthöhe), $\phi_i = 2,2$ cm, 150mg Racemat (Trögersche Base) in ca. 5ml, 20°C, 300ml/h. V_r in 25ml Fr.

<u>Fließmittel</u>	<u>V_r</u>	<u>$\bar{A}$</u>
Petroläther	50	-9,8%
n-Hexan	25	-8,1%
Cyclohexan	10	+6,8%
(0,5% C_6H_6)		
Petroläther	22	-7,3%
(3,5% C_6H_6)		

Trotz der hohen Retention wird die Trögersche Base nur schlecht aktiviert. Auffällig ist die Drehsinnumkehr bei Verwendung von (technischem) Cyclohexan. Dies könnte auf seinen (präparativ schwer entfernbaren) Gehalt an Benzol (0,5%) zurückzuführen sein. Wir versetzten daher Petroläther mit 3,5% Benzol und chromatographierten die Träger-Base in diesem Fließmittel. Die Tabelle zeigt, daß V_r und $\bar{A}$ abnehmen, der Drehsinn der ersten Halbwelle aber bestehen bleibt.

Cyclohexan wird wahrscheinlich labil in den Nischen gebunden (Verwechslung mit Benzol?) und behindert dann die Sorption der Trögerschen Base. Benzol als Fließmittel läßt dies deutlicher erkennen. Im Gemisch mit anderen Lösungsmitteln spielt Cyclohexan im Gegensatz zu Benzol nur eine untergeordnete Rolle (Verschlechterung der Anreicherung):

<u>Fließmittel</u>	<u>--V--</u>	<u>--Ä--</u>
Äther	4	-18,6%
Cyclohexan:	5	- 6,3%
Äther = 1:1		

Versuchsbedingungen wie vorher (Träger-Base).

An amorphem Triacetat zeigt diese Substanz in allen Fließmitteln stets (+)-Drehung der ersten Anteile.

Aliphatische Kohlenwasserstoffe sind für die chromatographische Racematspaltung an Triacetylcellulose wenig geeignet, da die Quellung beim Lösungsmittelaustausch stark zurückgeht, die Retentionen meist sehr hoch, die Aktivierungen aber gering sind.

II.) Benzol

Benzol als Fließmittel ist präparativ (Löslichkeit der Proben) und theoretisch interessant, obwohl der UV-Detektor nicht verwendbar ist (jedoch das Polarimeter).

Säule: 65g mikrokrist. Triacetat, 90-56 μ , Benzol (5min 80°), L = 40cm, ϕ_1 = 2,2cm, 150mg Racemat in 3ml, 20°C, 300ml/h. V_r in 25ml Fraktionen.

<u>Substanz</u>	<u>--V--</u>	<u>--Ä--</u>
Trögersche Base	0,75	+11,2%
2-Phenylcyclohexanon	2	+72,5%
1,1-Phenyl-o-anisyläthan	1	-28,8%

Die Proben laufen fast mit der Front; die α -Peaks sind sehr scharf. Benzol besetzt ("blockiert") die Nischen des kristallinen Acetats und wirkt gleichzeitig stark desorbierend; die V_r -Werte am amorphen Sorbens sind identisch.

Die Diskussion der mittleren Anreicherungen $\bar{A}$ der drei Verbindungen an verschiedenen Trennsystemen bestätigt unsere Vorstellung von der Sorption durch kristallines Triacetat.

System 1: kristallin/Äthanol

System 2: kristallin/Benzol

Vergleichbare Säulen

System 3: amorph/Äthanol

und Bedingungen.

System 4: amorph/Benzol

<u>Substanz</u>	<u>$\bar{A}1(\%)$</u>	<u>$\bar{A}2(\%)$</u>	<u>$\bar{A}3(\%)$</u>	<u>$\bar{A}4(\%)$</u>
Trögersche Base	-100	+ 11	+ 10	+ 8
Phenylcyclohexanon	+100	+ 72	+ 45	+ 12
Phenylanisyläthan	-100	- 29	- 35	- 21

2-Phenylcyclohexanon wird in einer einzelnen Nische gebunden. Sein aromatischer Rest kann als Konkurrent gegenüber sorbiertem Benzol wirken; es stellt sich ein Gleichgewicht ein. $\bar{A}2$ ist daher noch sehr gut.

Die Molekeln von Trögerscher Base und 1-Phenyl-1-o-anisyläthan werden an (mindestens) zwei Stellen im Gitter des kristallinen Acetats fixiert. Im System 2 müßten die Moleküle gleichzeitig zwei Benzolkerne desorbieren, wenn die Sorption nach dem Mechanismus von System 1 erfolgen soll.

Dies ist unter den chromatographischen Bedingungen kaum möglich; die aktiven Zentren sind daher unwirksam. Die Trennung gleicht dann der Aktivierung durch amorphes Acetat.

Die Trögersche Base zeigt deshalb bei der Chromatographie an System 2 anfänglich (+)-Drehung.

Die folgende Versuchsreihe bestätigt die dominierende Wirkung des Benzols in Lösungsmittelgemischen durch Blockieren der aktiven Zentren.

Versuch:

Eine Säule mit mikrokristallinem Triacetat, $90-56\mu$, $L = 40\text{cm}$, $\phi_1 = 3,1\text{cm}$, Äthanol (15min 80°C), wird mit dem Fließmittel Äthanol/Benzol (steigender Benzolgehalt, in Volumenprozent) gespült, 250mg Träger-Base in 4ml, 20°C , 300ml/h.

V_r in 25ml Fraktionen.

<u>Benzolgehalt(%)</u>	<u>V_r</u>	<u>$\bar{A}$(%)</u>
0	32	-100
5	10	- 7
10	7	+ 4
25	4	+ 27
100	1,5	+ 11

Ein geringer Benzolzusatz erhöht stark das Elutionsvermögen des Fließmittels. Vorzeichen und Größe von $\bar{A}$ resultieren aus der Konkurrenz der konträren Mechanismen. Die geringe Aktivierung in reinem Benzol zeigt, daß hier auch die Sorption durch andere Struktureinheiten als die Zentren behindert ist.

III.) Die Äther

A) Diäthyläther

Er bildet in den Küvetten leicht Dampfblasen, die die Registrierung der UV-Chromatogramme erschweren, die der Drehwinkelkurven ganz unmöglich machen. Vorteilhaft ist die hohe Fluidität, die schnellste Strömungen erlaubt.

Versuch:

175g mikrokristallines Triacetat, 90-56 μ , vorgequollen in Äthanol (15min 80°C), Fließmittelaustausch außerhalb, L = 40cm, $\phi_i = 3,1$ cm, 250mg Racemat in 3ml, 20°C, 300ml/h.
 V_r in 25ml Fr., $\bar{A}$ in % oder als $[\alpha]_{435}^{25}$ (CHCl₃).

<u>Substanz</u>	<u>V_r</u>	<u>(Äther) $\bar{A}$</u>	<u>V_r</u>	<u>(Äthanol) $\bar{A}$</u>
Trögersche Base	8	-19,3%	32	-100%
Phenylcyclohexanon	12	+70,5%	23	+100%
Tropasäure	13	+ 6,6%	6	+7,1%
Atrolactinsäure	13	- 6,8%	7	+7,5%
Mandelsäure	9	- 3,5%	7	+3,8%
"-methylester	14	+ 48°	9	+39°
"-isopropylester	7	+ 28°	7	+22°

Alle Peaks in Äther besitzen ein mehr oder weniger starkes -tailing-. Beim Vergleich mit Äthanol zeigen sich wechselnde Resultate: Phenylcyclohexanon und die Träger-Base werden schlechter, die Mandelsäureester besser aktiviert. Die Um-

kehr des Drehsinns bei Atrolactin- und Mandelsäure wird eigens diskutiert.

B) Diisopropyläther

Dieser Äther erlaubt gerade die ungestörte Registrierung der Chromatogramme; er ist allerdings teurer als Diäthyläther und sehr autoxydabel. Beim Eindampfen größerer Mengen hinterbleiben dann Oxydationsprodukte, die die Proben verunreinigen.

Versuch:

Bedingungen wie bei Diäthyläther; 170g ergeben 40cm Betthöhe. V_r und $\bar{A}$ wie dort.

<u>Substanz</u>	<u>V_r (Äther) $\bar{A}$</u>	<u>V_r (Äthanol) $\bar{A}$</u>
Trögersche Base	38 - 50%	32 -100%
Phenylcyclohexanon	58 + 92%	23 +100%
Mandelsäure	40 -5,2%	7 +3,8%
5-Phenylnorbornen	3 - 73°	8 -210°

Diisopropyläther zeigt in den meisten Fällen enorm große Retentionsvolumina; die Aktivierungen sind aber nicht besser als in Äthanol. Die rasche Elution des Phenylnorbornens deutet an, daß die Polarität eines Fließmittels keinen wesentlichen Einfluß auf die V_r -Werte besitzt.

Die Größe eines Retentionsvolumens an Cellulosetriacetat wird durch das Zusammenwirken von Sorbens, Eluens und Sorbat bestimmt:

Trögersche Base, Säule 40cm/3,1cm, mikrokrist. Triacetat, 20°C, V_r in 25ml Fraktionen.

<u>Lösungsmittel</u>	<u>V_r</u>
Methanol	8
Äthanol	32
Isopropanol	46
Diäthyläther	8
Diisopropyläther	38
Benzol	1,5
n-Hexan	50

Innerhalb einer Lösungsmittelklasse scheinen sterische Faktoren ausschlaggebend zu sein: Methanol und Diäthyläther besitzen gegenüber der Träger-Base gleiche elutrope Wirkung; beide eluieren jedoch viel stärker als ihre Verwandten Isopropanol und Diisopropyläther.

Die Qualität einer Racemattrennung ist zusätzlich von schwer überschaubaren Faktoren wie Diffusion, Quellzustand (und damit veränderliche Gitterabstände), Solvatisierung der Acetatgruppen und Sorbatmoleküle sowie deren Assoziationsgleichgewichte in dem jeweiligen Fließmittel abhängig.

IV.) Die Alkohole

A) Methanol

Methanol besitzt von allen Alkoholen das stärkste Elutionsvermögen; die Aktivierungen sind schlechter als in Äthanol.

Versuch:

140g mikrokristallines Triacetat, 90-56 μ , Methanol (15min 80°C), L = 40cm, ϕ_i = 3,1cm, 250mg Racemat, 20°C, 300ml/h.

<u>Substanz</u>	<u>V_r (Methanol)</u>	<u>$\bar{A}$</u>	<u>V_r (Äthanol)</u>	<u>$\bar{A}$</u>
Trägersche Base	8	- 34%	32	-100%
Phenylcyclohexanon	10	+ 93%	23	+100%
2,5-Dibromhydrochinon-	5	+ 12%	11	+100%
decamethylenäther				

Nur 2-Phenylcyclohexanon wird (trotz schneller Elution) noch in zwei Peaks gespalten.

B) Äthanol

Technischer Äthylalkohol (4% Wasser, 1% Petroläther) ist das optimale Fließmittel für die meisten Trennprobleme. Ein neues Racemat wird man stets zuerst in Äthanol testen. Bei zu hoher Retention kann die Säule bis 50°C erwärmt werden, wodurch die Elution meist stark beschleunigt wird. Bei zu schneller Wanderung der Proben verbessert ein abgekühltes Eluens (bis ca. -20°C) oftmals die Aktivierung. In diesen Fällen bringt jedoch eine Lösungsmittelvariation

größere Erfolge. Für Säuren empfehlen sich Wasser-Äthanol-Gemische, für Ketone und Ester höhere Alkohole.

Nur wenn das Lösungsverhalten der Racemate es erfordert, sind Äther oder Benzol, am besten im Gemisch mit Äthanol, zu verwenden.

C) Isopropanol

Isopropylalkohol eluiert meist langsamer als Äthanol; er ist aber deshalb keineswegs generell besser zur Racemattrennung geeignet. Seine Wirksamkeit muß erst der Einzelfall zeigen.

Versuch:

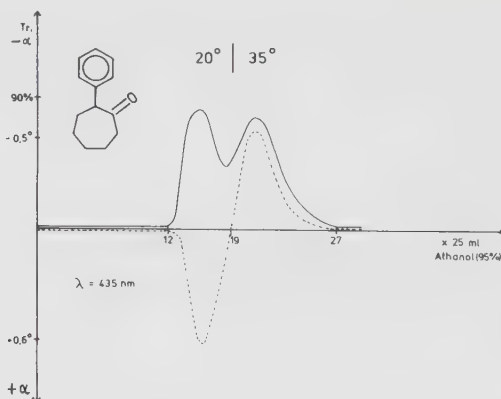
140g mikrokristallines Triacetat, 90-56 μ , in Äthanol vorgequollen (15min 80°C), außerhalb der Säule durch Isopropanol ersetzt, L = 40cm, ϕ_1 = 3,1cm, 250mg Racemat, 20°C, 300ml/h. V_r in 25ml Fr., bei Trögerscher Base und 2-Phenylcycloheptanon auf 20°C zurückgerechnet; $\bar{A}$ in % oder als $[\alpha]_{435}^{25}$ (CHCl₃).

Substanz	V_r -(Isoprop.)	$\bar{A}$	V_r -(Äthanol)	$\bar{A}$
Trögersche Base	46	- 85%	32	-100%
2-Phenylcycloheptanon	30	+400°	18	+370°
2-Cyclohexylcyclohexanon	5,5	+103°	5	+ 81°
2-Cyclohexylcycloheptanon	4,5	+ 38°	4	+ 24°
5-Phenylnorbornen	11	-198°	8	-210°
2-Phenylnorbornan	10	+ 24°	7	+ 31°

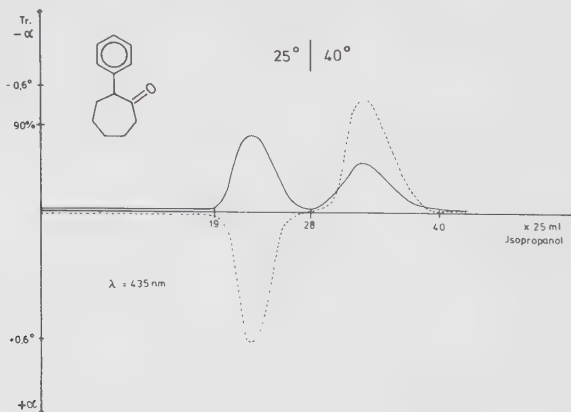
Das schönste Beispiel einer Trennungsoptimierung durch Fließmittelvariation ist (neben der Reihe -Mandelsäure-) die Spaltung von 2-Phenylcycloheptanon. In Äthanol beträgt die Auflösung maximal 50% (Bild 1); Versuchsbedingungen: Säule wie oben, Äthanol (15min 80°C), 20-35°C.

In Isopropanol (25-40°C) erfolgt nahezu Basistrennung (Bild 2). Die beiden Enantiomeren lassen sich zur Kristallisation bringen.

1.) 2-Phenylcycloheptanon in Äthanol (95%):



2.) 2-Phenylcycloheptanon in Isopropanol:



D) Weitere Alkohole

Bei Mandelsäure tritt ab C_3 eine Umkehr des Drehsinns der ersten Halbwelle ein.

Versuch:

140g krist. Triacetat, 71-56 μ , Äthanol (15min 80°C), dann Austausch außerhalb der Säule, $\phi_1 = 3,1 \text{ cm}$, 250mg Mandelsäure in 3ml, 20°C (tert.-Butanol 30°C), 100ml/h. Die Alkohole müssen weniger als 1% Wasser enthalten.

<u>Fließmittel</u>	<u>-V_r-</u>	<u>$\bar{A}$(%)</u>
Methanol	4	+ 5,9
Äthanol	7	+10,5
n-Propanol	7,5	- 7,6
Isopropanol	9	-13,8
sec.-Butanol	7,5	- 4,9
tert.-Butanol	6	-12,3 30°C

Die folgende Tabelle zeigt den Einfluß des Wassergehaltes von Isopropanol auf die mittlere Anreicherung $\bar{A}$ (Vorzeichen und Größe) bei Mandelsäure.

Versuch:

Eine Säule mit 140g krist. Triacetat, 71-56 μ , Isopropanol (außerhalb gegen Äthanol ausgetauscht), L = 40cm, $\phi_1 = 3,1$ cm, wird mit dem jeweiligen Fließmittel (steigender Wassergehalt) gespült, 250mg Mandelsäure in 3ml, 20°C, 50ml/h.

Der Wasseranteil des Isopropanols ist in Volumenprozent angegeben, V_r in 25ml Fraktionen.

<u>Wassergehalt</u>	<u>-V_r-</u>	<u>$\bar{A}$(%)</u>
0	9	-13,8
2,5	7	- 4,4
5	6	+ 1,1
10	5	+ 6,1
16,7	4,5	+ 6,6
25	4,5	+ 7,9
33	5	+10,0
50	7	+11,5
75	16	+19,2
100	55	+31,5

Der Drehsinn wird bereits durch geringe Wasserzusätze umgekehrt; dies gilt für alle höheren Alkohole (Deutung durch die Beeinflussung von Assoziationsgleichgewichten: Abschnitt 2.3.). Beachtenswert ist das äußerst schwache Elutionsvermögen des reinen Wassers gegenüber Mandelsäure.

Im Gegensatz zur freien Säure zeigen die Mandelester sowie die verwandten Verbindungen Tropa- und Atrolactinsäure in höheren Alkoholen keine Drehsinnumkehr.

Versuchsreihe:

Säulen mit mikrokrist. Triacetat (140-160g, je nach Alkohol), 90-56 μ , Austausch außerhalb, L = 40cm, $\phi_1 = 3,1$ cm, 250mg Racemat, 20°C, bei tert.-Butanol 30°C, 300ml/h.

$\bar{A}$ in % oder als $[\alpha]_{435}^{25}$ (CHCl₃).

I = Äthanol, II = Isopropanol, III = tert.-Butanol

Substanz	V_r -(I) $\bar{A}$		V_r -(II) $\bar{A}$		V_r -(III) $\bar{A}$	
Tropasäure	6	+7,1%	7	+10,6%	6	+6,3%
Atrolactinsäure	7	+7,5%	9	+1,2%	8	+2,0%
Mandelsäure	7	+3,8%	9	-5,4%	8	-4,9%
" -methylester	9	+ 39°	25	+146°	22	+190°
" -äthylester	7	+ 24°	19	+ 83°	16	+ 96°
" -isopropylester	7	+ 22°	11	+3,3°	10	+ 46°

Höhere Alkohole bringen bei Mandelsäureestern zum Teil enorme Verbesserungen gegenüber Äthanol. Auffällig ist die minimale Aktivierung des Mandelsäureisopropylesters gerade in Isopropanol. Die Spaltung der Säuren gelingt ebenfalls etwas besser; für Atrolactinsäure nähern sich die Fließmittel II und III langsam der "Umschlagspolarität". Die erzielten Anreicherungen sind daher geringer als in Äthanol. Durch die Verschiebung von Assoziationsgleichgewichten der 2-Hydroxysäure in der mobilen Phase resultiert dann in Äther zuerst (-)-Drehung ($\bar{A} = 6,8\%$).

Isopropanol und tert.-Butanol stellen für einige Racemate interessante Alternativen zu Äthanol dar. Andere höhere Alkohole sind zu teuer, zu hochsiedend und vor allem weniger tauglich. Bei der Spaltung von freien Säuren erweisen sich allerdings Wasser-Alkohol-Gemische als optimal.

V.) Wasser-Alkohol-Gemische

Als Testsubstanz bei der Ermittlung eines günstigen Mischungsverhältnisses diene die leicht lösliche Mandelsäure.

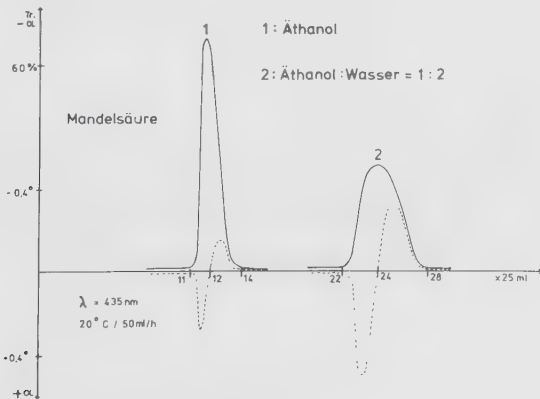
Versuchsreihe:

Säulen mit ca. 140g krist. Triacetat, $71-56\mu$, Quellmethode Seite 66/4, 250mg Mandelsäure in 3ml, 20°C , 50ml/h.

$L = 40\text{cm}$, $\phi_i = 3,1\text{cm}$, V_r in 25ml Fr.

Die Anreicherungen $\bar{A}$ sind Mittelwerte, da die Trennergebnisse bei wäßrigen Alkoholen variieren. Die Einhaltung der Korngröße $71-56\mu$, das Füllen der Säule ohne Druckanwendung und mäßige Strömungen (50-100ml/h) sind für gute Aktivierungen erforderlich. Quellmethode 4 wurde gewählt, da sie am besten reproduzierbar ist und hohe $\bar{A}$ -Werte erzielt.

<u>Fließmittel</u>	<u>V_r</u>	<u>$\bar{A}(\%)$</u>
Methanol	4	+ 6
Methanol:Wasser = 1:1	13	+23
Methanol:Wasser = 1:2	21	+28
Äthanol	7	+12
Äthanol:Wasser = 1:1	12	+21
Äthanol:Wasser = 1:2	21	+27
Isopropanol	9	-14
Isopropanol:Wasser = 1:1	7	+11
Isopropanol:Wasser = 1:2	16	+19



Die Abbildung zeigt die Gegenüberstellung der Chromatogramme von Mandelsäure in Äthanol und Äthanol:Wasser = 1:2 (Quellmethode Seite 66/5, $V_r = 19$).

Die Tabelle läßt erkennen, daß Isopropanol/Wasser-Gemische wenig geeignet sind. Der größte (von uns gefundene) $\bar{A}$ -Wert für Mandelsäure lag bei 46% (Äthanol:Wasser = 1:2, Quellmethode Seite 66/8). Andere Fließmittelzusammensetzungen bringen keine Verbesserungen mehr. Im Durchschnitt wird man mit dem Eluens Äthanol(Methanol):Wasser = 1:2 Mandelsäure stets zu über 30% aktivieren können.

VI.) Wasser

Reines Wasser ist nach dem Vorquellen des Sorbens in Äthanol besonders für die Aktivierung von racemischen Salzen verwendbar. Säuren und chinoide Farbsalze wandern sehr langsam. Kristallviolett bleibt als scharfe Zone am Säulenkopf retiniert, Methylorange besitzt ein Elutionsvolumen von vielen Litern.

Versuche:

150g kristallines Triacetat, 90-56 μ , in Äthanol (15min 80°) vorgequollen, gegen Wasser außerhalb der Säule ausgetauscht, L = 40cm, $\phi_1 = 3,1$ cm, 250mg Substanz, 20°C, 300ml/h.

1.) Anorganische Salze wandern schnell, doch nicht mit der Front. Fe^{3+} läuft rascher als Cr^{3+} (Ni^{2+} , Cu^{2+}), so daß es glatt abgetrennt werden kann.

2.) Methyl-tert.-butyl-phenyl-benzylphosphoniumchlorid wird in Wasser stärker retiniert und aktiviert als in Äthanol. Wasser: $V_r = 6$, $\bar{A} = -5,8^\circ$; Äthanol: $V_r = 3$, $\bar{A} = -1,8^\circ$ ($\bar{A}$ als $[\alpha]_{589}^{25}$, Methanol).

3.) Für Mandelsäure ist Wasser als Fließmittel kaum geeignet, da die Elutionsvolumina enorme Werte besitzen: V_r (20°C) = 55, V_r (40°C) = 35. Die Anreicherungen $\bar{A}$ sind durchwegs geringer als bei 25-prozentigem Äthanol.

2.2.4.2. Belastung, Strömung und Temperatur

I.) Die Belastung der Trennsäule

Nach der Kenntnis der optimalen Säulenfüllung (Sorbens, Korngröße, Quellen, Lösungsmittel) müssen die richtigen Betriebsbedingungen bei der chromatographischen Racematspaltung ermittelt werden.

Die Belastbarkeit einer Säule ist definiert als die Menge einer einheitlichen Analysensubstanz, bei der die Trennleistung n^1 auf 90% des Ausgangswertes abgesunken ist ⁷⁴⁾ (Gas-, Hochdruckflüssigchromatographie). In der präparativen Praxis der chromatographischen Racematspaltung interessieren aber nicht die Bodenhöhen HTS, sondern einzig die erzielten Anreicherungen $\bar{A}$. Die zu dosierende Menge hängt von der Problemstellung ab. Wird ein nur deutlich aktiviertes Produkt benötigt (Racemisierung, Aufklärung von Mechanismen...), empfiehlt sich die Aufgabe einer bequem weiterverarbeitbaren Substanzmenge. Bei vergleichenden Spaltungen (wie in dieser Arbeit) wird man eine konstante Dosierung wählen, die die Bestimmung der Drehwerte mit ausreichender Genauigkeit erlaubt. Für die Erreichung möglichst hoher $\bar{A}$ -Werte ist aber die optimale Säulenbelastung bei der jeweiligen Trennung zu ermitteln.

Als Testsubstanzen dienten Phenylelessigsäure und Mandelsäure; beide lassen die fehlerfreie Berechnung der Bodenhöhen zu. An Phenylelessigsäure als einheitlicher Verbindung kann der Verlauf von HTS bei zunehmender Dosierung, an Mandelsäure zusätzlich die Veränderung von $\bar{A}$ studiert werden.

Versuch:

140g mikrokrist. Triacetat, 90-56 μ , Äthanol 95% (15min 80°), L = 40cm, $\phi_i = 3,1$ cm, 20°C, 300ml/h. Steigende Einwaagen, in 7ml. V_r in 25ml Fr., M^* ist die getrennte Enantiomerenmenge (nach $\bar{A}$ und Einwaage). Berechnung von $\bar{A}$: Seite 33.

Belastung (mg)	Phenyllessigsäure		Mandelsäure			
	V_r	HTS(mm)	V_r	HTS(mm)	$\bar{A}$ (%)	M^* (mg)
50	9	5,1	7	4,9	3,80	1,9
250	9	5,4	7	5,1	3,85	9,6
500	9	6,1	7	6,1	3,30	16,5
1000	8,5	9,6	6,5	7,9	2,50	25,0
2000	8	20,0	6	16,1	1,47	29,4

Die Dosierung 500mg/140g Sorbens führt schon zur Überlastung. Bei noch höherer Einwaage sinkt $\bar{A}$ rasch (starke Zunahme der Bodenhöhe HTS). Der Enantiomerenüberschuß M^* ist dann der dosierten Menge nicht mehr proportional.

Die beschriebene Säule kann bei vollständigen Trennungen mit maximal 1g belastet werden: 1,1-Phenyl-o-anisyläthan gibt dann noch zwei separate Peaks.

II.) Die Strömungsgeschwindigkeit des Elutionsmittels

Die van Deemter-Gleichung $HTS = A + B/u + C \cdot u$ stellt eine Hyperbel mit einem Minimum dar, d.h., es läßt sich eine optimale Strömungsgeschwindigkeit u finden. In der Gaschromatographie zeigt sich aber, daß bei vielen Säulen die Kurven nach dem Minimum von HTS (zunehmendes u) nur geringe Steigungen besitzen. Eine hohe Fließgeschwindigkeit ist vorteilhaft, da Trennungen kaum verschlechtert werden, der Zeitgewinn jedoch beträchtlich sein kann.

Wir versuchten, bei der chromatographischen Racematspaltung an Cellulosetriacetat eine günstige Strömung (Größe von $\bar{A}$: Zeitbedarf) zu ermitteln.

Versuch:

Säule von Seite 115, 250mg Racemat, 20°C (oder T-Programm).

1.) Die vollständig spaltbaren Racemate werden im Bereich 50-400ml/h ohne bemerkbare Unterschiede (Chromatogramme, $\bar{A}$) getrennt.

2.) Verlauf der HTS-Werte von Phenylessig- und Mandelsäure (hier zusätzlich $\bar{A}$) bei Variation der Strömungsgeschwindigkeit des Elutionsmittels (Äthanol 95%):

<u>Strömung</u> (ml/h)	<u>Phenylessigsäure</u>		<u>Mandelsäure</u>		
	V_r	HTS(mm)	V_r	HTS(mm)	$\bar{A}(\%)$
100	9	5,2	7	5,0	3,96
200	9	5,4	7	5,1	3,80
300	9	5,4	7	5,1	3,85
400	9	5,4	7	5,1	3,83

Die geringe Verbesserung von $\bar{A}$ bei 100ml/h gegenüber 400 ml/h erscheint bei Beachtung des viel höheren Zeitbedarfs als nicht rentabel. In Äthanol wird man daher bei maximaler Strömung arbeiten und (falls erforderlich) die beiden Fraktionen ein zweites Mal chromatographieren. Bei Alkohol-Wasser-Gemischen sind allerdings Flüsse von mehr als 100ml/h zu vermeiden.

Die obere Grenze der Fließgeschwindigkeit ist vom Lösungsmittel und von der Korngröße abhängig.

Die Standardsäule (90-56 μ) läßt mit einem Tropftrichter maximal 200ml/h zu. Für höhere Strömungen muß eine Quetschpumpe verwendet oder Gasdruck auf das Vorratsgefäß gegeben werden. Drücke von mehr als 0,3atü zerstören die Packung durch gelöstes Gas, das am Säulenfuß entweicht und die Füllung aufreißt. Manche Lösungsmittel (Äther, Benzol) verursachen bei schnellen Strömungen in der Küvette des Polarimeters (10cm) Schlieren, die die Registrierung der Drehwinkelkurve erschweren (Pendeln der Nulllinie).

III.) Die Temperatur des Elutionsmittels

Eine neue Probe wird man zuerst bei Raumtemperatur chromatographieren; je nach Retention und Trennung kann dann die Säulentemperatur variiert werden.

Allgemein gilt: Temperaturerhöhung fördert die Desorption (Ausheizen).

1.) Stark retenierte Aromaten:

Benzol $V_r(20^{\circ}\text{C}) = 27$, $V_r(40^{\circ}\text{C}) = 18$

Naphthalin $V_r(20^{\circ}\text{C}) = 42$, $V_r(40^{\circ}\text{C}) = 28$

Anthracen $V_r(20^{\circ}\text{C}) = 31$, $V_r(40^{\circ}\text{C}) = 20$

Langsam eluierte Verbindungen müssen bei 40°C chromatographiert werden, damit das UV-Signal nicht zu breit gerät. Zur Umrechnung (für Vergleiche) kann folgende empirische Regel dienen:

$$V_r(20^{\circ}\text{C}) \approx 1,5V_r(40^{\circ}\text{C})$$

2.) Die Trennung der vollständig spaltbaren Racemate erfordert meist eine Temperaturerhöhung der Säule nach der Elution des ersten Enantiomeren, da das Retentionsvolumen sonst zu groß würde. Wasserthermostaten sind gewöhnlich nicht für ein kontinuierliches Programm eingerichtet; die Temperatur wird deshalb sprunghaft erhöht. Dabei nimmt gleichzeitig die Strömungsgeschwindigkeit zu, so daß der zweite Peak fast die Schärfe des ersten erreicht.

Die folgende Tabelle zeigt die günstigsten Temperaturen bei der Chromatographie der vollständig spaltbaren Racemate an mikrokristallinem Cellulosetriacetat in Äthanol:

<u>Substanz</u>	<u>1. Peak</u>	<u>2. Peak</u>
Ansaverbindung	20 °C	35-40°C
Phenylcycloheptanon	20	35-40
Phenylcyclohexanon	25	35-40
Trögersche Base	25-30	40-45
Phenylanisyläthan	40	40-50

In Äthanol dürfen 50°C nicht überschritten werden, da sonst die Packung durch Dampf- und Gasblasen zerstört wird.

Weiterhin ist zu beachten, daß sich das Sorbens bei 50°C merklich in Äthanol löst (215mg/L). Die Proben sind dann, sofern möglich, in n-Hexan aufzunehmen und zu filtrieren. Eine mit Cellulosetriacetat verunreinigte Substanz zeigt meist zu geringe spezifische Drehungen, da die Einwaage zu hoch eingesetzt wird (Acetylcellulose besitzt nur kleine $[\alpha]$ -Werte; sie "verdünnt" die Proben).

3.) Normal aktivierbare Racemate werden bei einstufigen Trennprozessen (z.B. Rührversuche) in der Kälte meist besser gespalten. Hohe Temperaturen verringern die Stabilitätsunterschiede zwischen den diastereomeren Sorbaten.

Versuch:

Säule von Seite 115, 250mg Substanz in 3ml, 300ml/h.

<u>Temperatur</u> (°C)	<u>Phenyllessigsäure</u>		<u>Mandelsäure</u>		
	V_r	HTS(mm)	V_r	HTS(mm)	$\bar{A}(\%)$
-10	14	14,3	10	16,7	4,60
0	12	10,2	9	8,3	5,00
+10	10	7,0	8	6,5	4,45
+20	9	5,4	7	5,1	3,85
+30	8	4,5	6	2,4	3,60
+40	7	3,4	5	1,6	3,40

Die HTS-Werte für Phenyllessigsäure zeigen, daß in der Kälte eine starke Peakverbreiterung eintritt. Große Bodenhöhen verschlechtern aber jede Trennung, auch die von Enantiomeren. Bei der chromatographischen Aktivierung von Mandelsäure existiert eine optimale Temperatur (für die gewählten Bedingungen: 0°C). Bei weiterer Abkühlung wirkt der erhöhten Sorption des (-)-Antipoden in der Kälte die schlechte Trennleistung n^1 der Säule entgegen: $\bar{A}$ nimmt wieder ab.

Dieser Effekt wird auch bei der Chromatographie anderer Racemate beobachtet.

Versuche:

140g mikrokrist. Triacetat, 71-56 μ , Äthanol(15min 80°C),
L = 40cm, $\varnothing_i = 3,1$ cm, 250mg Racemat in 4ml, 100ml/h.

<u>Temperatur</u> (°C)	<u>2-Phenylnorbornan</u>		<u>5-Phenylnorbornen</u>	
	V_r	$\bar{A}(^\circ)$	V_r	$\bar{A}(^\circ)$
20	7	47	8	260
0	10	47,5	12	270

Bei 0°C sind die Anreicherungen $\bar{A}$ (als $[\alpha]_{435}^{25}$ (CHCl₃) ange-

geben) nicht wesentlich besser als bei 20°C.

4.) Sehr schwer spaltbare Verbindungen werden nach dem Abkühlen der Trennsäule allerdings deutlich stärker aktiviert.

Bedingungen: wie vorher (71-56 μ).

<u>Temperatur</u>	<u>2-Cyclohexylnorbornan</u>		<u>3-Methylcyclohexanon</u>	
(°)	V _r	$\bar{A}(1)$	V _r	$\bar{A}(2)$
+20	4	0,78	8	36,2
-10	5	1,54	10	57,5

$\bar{A}(1)$ als $[\alpha]_{313}^{25}$ (n-Hexan), $\bar{A}(2)$ als $[\alpha]_{365}^{25}$ (Äthanol).

Zusammenfassung:

Die Standardsäule (140g mikrokristallines Cellulosetriacetat, 71-56 μ oder 90-56 μ , Äthanol, 15min 80°C, L = 40cm, $\phi_1 = 3,1$ cm) wird im Durchschnitt bei folgenden Arbeitsbedingungen optimal betrieben:

250mg Substanzgemisch/140g Sorbens, 200-300ml Äthanol/h.

Die Arbeitstemperatur richtet sich nach der Probe und ihrer Aktivierbarkeit; bei schwierigen Trennungen kann ein abgekühltes Fließmittel Vorteile bringen, in wenigen Fällen muß das stärker retenierte Enantiomere ausgeheizt werden.

2.3. Struktur und Aktivierbarkeit

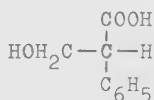
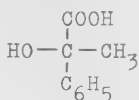
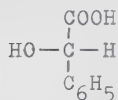
2.3.1. Racemate mit asymmetrischen Kohlenstoffatomen

2.3.1.1. Offenkettige Verbindungen

Als -offenkettig- seien die Racemate bezeichnet, deren asymmetrische C-Atome nicht in einem Ringsystem liegen (z.B. Mandelsäure). Die spezifischen Drehungen (soweit bekannt) wurden dem Beilstein oder der neueren Literatur ⁷⁵⁾ entnommen.

I.) Mandel-, Atrolactin- und Tropasäure

Alle drei Verbindungen zeigen in Äthanol an kristallinem und amorphem Triacetat zuerst (+)-Drehung.



L(+)-Mandels.

L(+)-Atrolactins.

D(+)-Tropas.

(+)-Mandel- und (+)-Atrolactinsäure gehören der L (=S)-Reihe, (+)-Tropasäure der D (=R)-Reihe an (nach Definition).

Die (+)-Tropasäure besitzt jedoch in Bezug auf den Benzolkern die gleiche sterische Anordnung der funktionellen Gruppen, was ein Grund für die gleiche Spezifität des Sorbens gegenüber den drei Säuren sein kann.

Bei Lösungsmittelvariation zeigen sie allerdings ein unterschiedliches Verhalten:

Säulen mit mikrokristallinem Triacetat, 90-56 μ , L = 40cm, $\phi_1 = 3,1\text{cm}$, gleiche Bedingungen.

<u>Fließmittel</u>	<u>A(%)Mandels.</u>	<u>A(%)Atrol.s.</u>	<u>A(%)Tropas.</u>
Äthanol	+3,8	+7,5	+ 7,1
Isopropanol	-5,4	+1,2	+10,6
tert.-Butanol	-4,9	+2,0	+ 6,3
Äther	-3,5	-6,8	+ 6,6

Bei abnehmender Polarität des Fließmittels kehrt sich zuerst bei Mandelsäure, dann bei Atrolactinsäure das Vorzeichen von $\bar{A}$ um. Tropasäure zeigt stets (+)-Drehung.

Bei der Chromatographie der drei Racemate an umgefälltem Triacetat tritt in allen Lösungsmitteln niemals (-)-Drehung auf.

Die Tabelle auf Seite 111 (unten) läßt erkennen, daß die Drehsinnumkehr nicht durch eine Veränderung im Sorptionsmittel verursacht wird, da schon geringe Wasserzusätze diesen Effekt hervorrufen.

Carbonsäuren bilden in wenig-polaren Lösungsmitteln Dimere durch H-Brücken-Bindungen zwischen zwei Carboxylgruppen. Bei Hydroxysäuren können zusätzliche intra- und intermolekulare H-Brücken (vergleichbar: Lacton- bzw. Lactidbildung) diskutiert werden. Je nach der Polarität der Lösung liegen verschiedene Assoziate nebeneinander vor.

Der resultierende Drehsinn der ersten Halbwelle wird von der Lage der Assoziationsgleichgewichte sowie der Spezifität und Wirksamkeit des Sorbens gegenüber den einzelnen "Komponenten" der mobilen Phase bestimmt.

Die "monomeren" Säuren (mit Solvathülle) zeigen zuerst (+)-Drehung, ihre Salze werden nicht aktiviert.

Bei Mandelsäure überwiegt ab n-Propanol, bei Atrolactinsäure erst in Äther die Sorption eines Assoziates, die zur (-)-Drehung in den Trennstufen führt. Das muß aber nicht bedeuten, daß Atrolactinsäure bei gleicher Polarität der Lösung mehr H-Brücken zu den Solvensmolekeln ausbildet als Mandelsäure (also weniger assoziiert ist), da die Einzel-Wirksamkeiten des Sorbens unbekannt sind.

Die Sorption einer Komponente der bewegten Phase kann, muß aber nicht zur Drehsinnumkehr führen (Tropasäure!); entscheidend sind sterische Faktoren, die sich kaum überblicken lassen. Die Umkehr scheint jedoch nur bei Hydroxycarbonsäuren aufzutreten:

<u>Fließmittel</u>	<u>Phenyläthermandels.</u>	<u>Phenylmesitylessigs.</u>
Äthanol	+75°	+11°
Isopropanol	+82°	+57°
Äther	+68°	+20°

Säulen wie Seite 121, übliche Bedingungen.

A als $[\alpha]_{435}^{25}$ (CHCl₃).

Die Optimierung der Racematspaltung gelingt durch Chromatographie an kristallinem Triacetat der Siebfraction 71-56 μ in wäßrigen Alkoholen. Die Tabelle zeigt die Anreicherungen $\bar{A}$ (Durchschnittswerte) von Mandelsäure (250mg) an Säulen mit krist. Sorbens, 71-56 μ , L = 40cm, $\phi_1 = 3,1$ cm, 20°C (tert.-Butanol 30°C), 100ml/h.

<u>Fließmittel</u>	<u>V_r</u>	<u>$\bar{A}$(%)</u>
Wasser	55	+28
Wasser:Äthanol = 2 : 1	21	+30
Methanol	4	+ 5
Äthanol	7	+10
Isopropanol	9	-13
tert.-Butanol	8	-12
Diäthyläther	9	- 6
Diisopropyläther	40	-11

II.) Mandelsäureester

Versuchsbedingungen von Seite 85 (90-56 μ , Äthanol 95%).
 $\bar{A}$ als $[\alpha]_{435}^{25}$ (CHCl₃, c 2), V_r in 25ml Fraktionen.

<u>Ester</u>	<u>V_r</u>	<u>(krist.) $\bar{A}$(°)</u>	<u>V_r</u>	<u>(amorph) $\bar{A}$(°)</u>
-methyl-	9	+39,0	7	+22,1
-äthyl-	7	+24,6	7	+19,5
-isopropyl-	7	+22,0	7	+14,6
-tert.-butyl-	6	-25,8	5	+ 3,3

Während die ersten drei Mandelsäureester an kristallinem besser als an amorphem Triacetat, doch mit gleicher Spezifität aktiviert werden (alle vier Ester gehören z.B. der L(+)-Reihe an), zeigt der tert.-Butylester ein anormales Verhalten. Nur am amorphen Sorbens wird das (-)-Enantiomere stärker reteniert (wie bei den verwandten Estern). Die geringen V_r-Werte lassen erkennen, daß die sperrige tert.-Butylgruppe die Sorption stark behindert. Sterische Faktoren werden sich gerade beim Eindringen in die chirale Matrix des kristallinen Acetates bemerkbar machen; u.U. resultiert eine Drehsinnumkehr.

III.) Verbindungen vom Typ $C_6H_5-CH(R)-CH_3$

A) $R_1 = OH$, $R_2 = NH_2$, $R_3 = C_2H_5$

Bedingungen wie auf Seite 85 beschrieben (mikrokrist., 90-56 μ , Äthanol 95%).

<u>Substanz</u>	<u>V_r</u>	<u>$\bar{A}$</u>	<u>Konfiguration</u>
1-Phenyläthanol	6	-4%	S(-)
1-Phenyläthylamin	7	+1%	R(+)
2-Phenylbutan	9	+36°	S(+)

Spalte 4 enthält die Konfigurationen der schwächer sorbier-ten Enantiomeren; die unterschiedliche Spezifität des Sor-bens für Substanz 1 und 2 zeigt, daß das Vorzeichen von $\bar{A}$ nicht zur Konfigurationsbestimmung herangezogen werden darf.

Die spezifische Drehung von 2-Phenylbutan wurde, da die Ver-bindung beim Eindampfen des Äthanol mit übergeht, direkt durch Messen der Drehung des Eluats ermittelt.

1.Fraktion = 60ml, $\alpha_{313}^{25} = +0,070^\circ$ ($\hat{=}$ $0,042^\circ$ für 100ml)

2.Fraktion = 100ml, $\alpha_{313}^{25} = -0,048^\circ$

Einwaage: insgesamt 250mg, $[\alpha]_{313}^{25} = \frac{0,090^\circ \cdot 10^3 \cdot 100ml}{250mg} = 36^\circ$.

$[\alpha]_{365}^{25} = 20^\circ$ (Äthanol).

Die spezifische Drehung des 2-Phenylbutans in Äthanol bei 313 bzw. 365nm ist nicht beschrieben ⁷⁶⁾, dennoch läßt sich abschätzen, daß dieses Racemat besser als Phenyläthanol oder Phenyläthylamin aktiviert wird.

Funktionelle Gruppen sind für die chromatographische Race-matspaltung nicht notwendig, manchmal sogar nachteilig.

B) $R = o/m/p-C_6H_4OCH_3$

Aktivierungen: Seite 85.

Nur das o-Isomere (1-Phenyl-1-o-anisyläthan) wird vollstän-dig getrennt; die Anreicherungen von m- und p-Verbindung sind geringer ($[\alpha]$ -Werte unbekannt).

Das Racemat und die Enantiomeren des 1-Phenyl-1-o-anisyl-äthans sind viskose Flüssigkeiten; letztere besitzen folgende spezifische Drehungen (CHCl_3 , $c = 1,2$):

<u>Wellenlänge(nm)</u>	<u>$[\alpha]_D^{25}(^\circ)$</u>
589	49,2
578	51,0
546	60,4
435	122
365	259

III.) Verbindungen vom Typ $\text{C}_6\text{H}_5\text{-CR}(\text{C}_6\text{H}_4\text{OCH}_3)_2\text{-CH}_3$

$\text{R}_1 = \text{Br}$, $\text{R}_2 = \text{OH}$; o/m/p-Isomere

Aktivierungen (R_2) : Seite 85.

Die Racemate o,m,p-Anisylphenyläthylbromid werden nicht (meßbar) gespalten; ein Grund dafür kann die (etwaige) Gleichheit der van der Waals-Radien von $-\text{Br}$ ($1,95 \text{ \AA}$) und $-\text{CH}_3$ ($2,0 \text{ \AA}$) sein.

In der Reihe o,m,p-Anisylphenyläthanol wird wiederum das ortho-Isomere am besten aktiviert; die Trennung ist jedoch nicht vollständig.

Von allen Phenylanisyläthanverbindungen läßt sich das unsubstituierte 1-Phenyl-1-o-anisyläthan am leichtesten spalten; weitere funktionelle Gruppen ($-\text{Br}$ und $-\text{OH}$) verschlechtern die Trennbarkeit der Antipoden. Alle ortho-Isomeren werden stärker reteniert als m- und p-Verbindungen (nur an kristallinem Triacetat).

1-Phenyl-1-m-anisyläthanol zeigt (wie Mandelsäure-tert.-butylester) ein anormales Verhalten. Am kristallinen Sorbens tritt zuerst, im Gegensatz zu den o- und p-Isomeren, Minusdrehung auf. Für die Spezifität der Nischensorption ist alleine das "Einpassen" der Molekeln in die aktiven Zentren maßgebend, nicht die Zugehörigkeit zu einer sterischen Reihe. Die Spaltung der drei isomeren Alkohole an amorphem Triacetat erfolgt mit gleicher Spezifität (anfänglich (+)-Drehung).

IV.) 2-Hydroperoxy-3,3-dimethylbuttersäure (Seite 14/II)

Diese empfindliche Verbindung ohne jegliches Ringsystem läßt sich an der Standardsäule (Seite 85, mikrokrist.) gut aktivieren (zuerst Plusdrehung):

$$[\bar{\alpha}]_{589}^{25} = 4,5^{\circ}, \quad [\bar{\alpha}]_{435}^{25} = 9,6^{\circ} \quad (\text{Äther, } c = 4,2).$$

2.3.1.2. Ringverbindungen

I.) Cyclopentan-, Cyclohexan- und Cycloheptanderivate

A) Säule von Seite 119 (mikrokrist., 71-56 μ , 20°C):

<u>Substanz</u>	<u>-V_r-</u>	<u>-$\bar{A}$-</u>	
2-Phenylcyclopentanon	14	+ 2,9°	X1
3-Methylcyclopentanon	7	+57,5°	X2

X1: $\bar{A}$ als $[\bar{\alpha}]_{435}^{25}$ (CHCl₃, c = 1); X2: $\bar{A}$ als $[\bar{\alpha}]_{365}^{25}$ (Äthanol, analog 2-Phenylbutan, Seite 124).

2-Phenylcyclopentanon wird trotz hoher Retention nur minimal aktiviert.

B) Säule wie bei A:

<u>Substanz</u>	<u>-V_r-</u>	<u>-$\bar{A}$-</u>	
3-Methylcyclohexen	6,5	+32,3°	X1
4-Methylcyclohexen	6,5	+12,6°	X1
2-Methylcyclohexanon	7,5	-10,4°	X2
3-Methylcyclohexanon	8,0	-36,2°	X2
2-Bromcyclohexanon	13,0	-25,8°	X3

X1: $\bar{A}$ als $[\bar{\alpha}]_{313}^{25}$ (Äthanol, analog Seite 124); X2: $\bar{A}$ als $[\bar{\alpha}]_{365}^{25}$

(Äthanol, wie X1); X3: $\bar{A}$ als $[\bar{\alpha}]_{435}^{25}$ (CHCl₃, c = 2,5)

Alle Proben (1 Ring, mono- bzw. bifunktionell) werden deutlich aktiviert. Während die $\bar{A}$ -Werte der ersten vier Racemate durch Messen der Drehungen der Eluate bestimmt werden müssen, lassen sich die Drehwerte des nach Abdampfen des Fließmit-

tels wiedergewonnenen 2-Bromcyclohexanons in beliebigen Lösungen feststellen.

Spezifische Drehungen, 2. Halbwelle, CHCl_3 , $c = 2,5$.

<u>Wellenlänge(nm)</u>	<u>$[\alpha]_{\lambda}^{25}(^{\circ})$</u>
589	9,9
578	10,5
546	12,3
435	27,6
365	81,5

Säule von Seite 85 (mikrokrist., $90-56\mu$), $\bar{A}$ in CHCl_3 :

<u>Substanz</u>	<u>$-V_r-$</u>	<u>$[\alpha]_{435}^{25}(^{\circ})$</u>
1-Methylen-2-phenylcyclohexan	9	- 10,2
2-Phenylcyclohexanon	23	+275
2-Phenylcyclohexanol(cis+trans)	6	+ 20,1
2-Cyclohexylcyclohexanon	5	+ 81,4

Als einziges von uns getestetes Cyclohexanderivat wird 2-Phenylcyclohexanon vollständig in die Antipoden gespalten (Chromatogramme Seite 23). Dieses Racemat konnte bisher noch nicht über Diastereomere getrennt werden. Die Bestimmung von $[\alpha]$ und der absoluten Konfiguration gelang durch die asymmetrische Synthese aus $(-)-(S,S)$ -1,2-Epoxy-1-phenylcyclohexan ⁷⁷).

Literatur: Fp. Racemat: 60°C , Fp. Antipoden: $38-39^{\circ}\text{C}$;

$$[\alpha]_{589}^{26} = 114,7^{\circ} \text{ (Benzol, } c = 0,45 \text{)}.$$

Gefunden: Fp. Antipoden: $41-42^{\circ}\text{C}$; $[\alpha]_{589}^{25} = 118^{\circ}$ (Bzl., $c = 1$).

<u>Wellenlänge</u>	<u>$[\alpha]_{\lambda}^{25}(1)$</u>	<u>$[\alpha]_{\lambda}^{25}(2)$</u>	<u>$[\alpha]_{\lambda}^{25}(3)$</u>	<u>$[\alpha]_{\lambda}^{25}(4)$</u>
589(nm)	135($^{\circ}$)	118($^{\circ}$)	106($^{\circ}$)	91,3($^{\circ}$)
578	143	125	112	95,5
546	168	144	132	113
435	334	290	275	235
365	770	678	610	520

1: n-Hexan ($c = 1,3$), 2: Benzol ($c = 1$),

3: Chloroform ($c = 1,2$), 4: Äthanol 95% ($c = 1,1$).

Im Gegensatz zu Phenylcyclohexanol wird 2-Cyclohexylcyclohexanon gut aktiviert. Die Tabelle zeigt seine von uns gefundenen Maximalwerte der spezifischen Drehungen (Chromatographie in Isopropanol, 2. Halbwelle) in Chloroform, $c = 1$.

<u>Wellenlänge(nm)</u>	<u>$[\alpha]_{\lambda}^{25}(^{\circ})$</u>
589	40,1
578	43,5
546	52,3
435	107
365	252

1-Methyliden-2-phenylcyclohexan wird mit umgekehrter Spezifität (im Vergleich zu 2-Phenylcyclohexanon) gespalten. Zur Klärung, ob beide (+)-Enantiomere der gleichen sterischen Reihe angehören, wurde die Wittigreaktion mit optisch reinem (+)-Phenylcyclohexanon durchgeführt (geringer Überschuß an Ylid). Trotz starker Racemisierung blieb die Plusdrehung erhalten; das aufgearbeitete Wittigprodukt besaß den Wert $[\alpha]_{435}^{25} = +12,3^{\circ}$. Obwohl (+)-1-Methyliden-2-phenylcyclohexan und (+)-2-Phenylcyclohexanon die gleiche räumliche Anordnung der chromatographisch wirksamen Gruppen besitzen, werden sie von Triacetylcellulose (krist. oder amorph) mit unterschiedlicher Spezifität sorbiert.

C) Säule von Seite 85 (mikrokrist., Äthanol), $\bar{A}$ in CHCl_3 :

<u>Substanz</u>	<u>$\bar{v}_r$</u>	<u>$[\alpha]_{435}^{25}(^{\circ})$</u>
2-Phenylcycloheptanon	18	+370
2-Cyclohexylcycloheptanon	4	+ 24

2-Phenylcycloheptanon gibt nur in Isopropanol eine Basis-trennung (Chromatogramme Seite 110); die endgültigen $[\alpha]$ -Werte erhält man nach dem Kristallisieren der Proben (Auswahl schöner Kristalle).

Literatur: Fp. Racemat: 21°C .

Gefunden: Fp. Antipoden: 30°C

<u>Wellenlänge(nm)</u>	<u>$[\alpha]_D^{25} (^\circ)$</u>	
589	158	
578	169	
546	201	CHCl ₃ ,
435	423	c = 0,9
365	998	

2-Cyclohexylcycloheptanon wird schnell eluiert, doch deutlich aktiviert. Die Tabelle enthält die maximal erreichten $[\alpha]$ -Werte (Isopropanol-Trennung, 1. Halbwelle):

<u>Wellenlänge(nm)</u>	<u>$[\alpha]_D^{25} (^\circ)$</u>	
589	24,6	
578	26,3	
546	31,9	CHCl ₃ ,
435	68,0	c = 1,2
365	161	

Zusammenfassung:

In der Gruppe 2.3.1.2/I sind für vollständige Antipodentrennungen an kristallinem Cellulosetriacetat bei einem Durchlauf eine Carbonylfunktion und ein aromatischer Ring notwendig; 1-Methylen-2-phenylcyclohexan, 2-Phenylcyclohexanol, 2-Cyclohexylcycloheptanon, 2-Methyl- und 2-Bromcyclohexanon werden nur aktiviert. Während 2-Phenylcyclopentanon nur minimal gespalten wird, gelingt die Trennung der Enantiomeren von 2-Phenylcyclohexanon glatt; 2-Phenylcycloheptanon läßt sich in Äthanol zu ca. 90% anreichern. Der Sechsring scheint eine optimale Größe zu besitzen; der Cyclopentanonrest ist vielleicht zu wenig flexibel, um die Carbonylgruppe bei der Sorption auf einen günstigen Fixierungspunkt auszurichten.

Die Struktur des Substituenten bei 2-Alkylcyclohexanonen beeinflusst Retention und Aktivierung:

Methyl: $V_R = 7,5$, zuerst (-); Cyclohexyl: $V_R = 5$, zuerst (+).

Die Dreipunktregel besitzt für Triacetylcellulose keine Gültigkeit. Monofunktionelle Racemate werden angereichert, bifunktionelle u.U. vollständig gespalten.

II.) Norbornanderivate

Säule: 140g mikrokrist. Triacetat, 71-56 μ , L = 40cm, ϕ_i = 3,1cm, Äthanol 95% (15min 80°C), 250mg Racemat in 5ml, 20°C, 200ml/h.

<u>Substanz</u>	<u>-v_r-</u>	<u>-$\bar{A}$(°)</u>
2-Phenylnorbornen	10	+154
5-Phenylnorbornen	8	-260
2-Phenylnorbornan	7	+ 47
2-Cyclohexylnorbornan	4	+0,8 X1

$\bar{A}$ als $[\alpha]_{435}^{25}$ (CHCl_3), bei X1: $[\alpha]_{313}^{25}$ (n-Hexan).

Die spezifische Drehung von 2-Phenylnorbornen ist bekannt:

$[\alpha]_{589}^{25} = 204^\circ$ (Äthanol) ⁷⁸⁾. Wir fanden folgende Drehwerte:

<u>Wellenlänge(nm)</u>	<u>$[\alpha]_{\lambda}^{25}(^\circ)$</u>
589	67,2
578	71,0
546	82,5
435	160

(2. Halbwelle obiger Trennung; CHCl_3 , c = 3,5).

Der aromatische Kohlenwasserstoff wird also zu etwa 30% aktiviert.

Die Diensynthese nach Vorschrift ⁷⁹⁾ (Styrol + Cyclopentadien) führt zu einem Gemisch aus ca. 70% endo- und 30% exo-5-Phenylnorbornen (NMR), das sich destillativ nicht trennen läßt (nur gaschromatographisch: 100m Kapillarsäule DEGS).

Die Hydrierungsprodukte 2-Phenylnorbornan (Nickel, 20°C) und 2-Cyclohexylnorbornan (Rhodium/Kohle, 75°C, 150atü) bestehen daher aus dem gleichen Isomerengemisch.

Die spezifischen Drehungen sind unbekannt.

Den Chromatogrammen kann entnommen werden, daß die Aktivierungen von 5-Phenylnorbornen und 2-Phenylnorbornan sicher den Wert von 2-Phenylnorbornen erreichen oder überschreiten, da der Drehwinkel-Nulldurchgang bereits auf der Rückflanke des UV-Peaks liegt (vgl. Seite 27).

5-Phenylnorbornen und 2-Phenylnorbornan verhalten sich chromatographisch etwa gleich, d.h. die Doppelbindung trägt hier nur wenig zur Trennbarkeit der Antipoden bei. Die Verschiedenheit von $\bar{A}$ (Vorzeichen, Größe) braucht nicht auf eine unterschiedliche Aktivierung oder Spezifität hinzuweisen, da die Konfigurationen und Drehungen unbekannt sind.

Wir fanden folgende Maximal-Drehwerte:

5-Phenylnorbornen = I, Chloroform, $c = 1$

2-Phenylnorbornan = II, " , $c = 1,5$.

<u>Wellenlänge(nm)</u>	<u>$[\alpha]_{\lambda}^{25} \text{I} (^{\circ})$</u>	<u>$[\alpha]_{\lambda}^{25} \text{II} (^{\circ})$</u>
589	134	27,1
578	140	28,1
546	162	31,8
435	304	55,3
365	535	92,0

Die guten Anreicherungen der aromatischen Norbornanderivate lassen die geringe Aktivierung des gesättigten Kohlenwasserstoffs dieser Reihe (2-Cyclohexylnorbornan) als kaum überraschend erscheinen. Die Tabelle enthält die gefundenen größten $[\alpha]$ -Werte (Äthanol, -10°C , 1.Halbwelle); n-Hexan, $c = 2$.

<u>Wellenlänge(nm)</u>	<u>$[\alpha]_{\lambda}^{25} (^{\circ})$</u>
546	1,50
435	2,25
365	2,85
313	3,70

Die Trennung gesättigter Kohlenwasserstoffe dürfte wahrscheinlich auf Verbindungen mit Ringsystemen begrenzt bleiben.

Die Spaltung der racemischen 1,2- und 1,3-Dimethylcyclohexane gelang nicht (-20°C). Olefinische oder aromatische Kohlenwasserstoffe mit einem Ring lassen sich dagegen deutlich aktivieren (Methylcyclohexene, sec.-Butylbenzol).

Die Drehwinkelkurve auf Seite 29/III zeigt, daß an kristallinem Cellulosetriacetat Kohlenwasserstoffe teilweise aktiviert und getrennt werden.

2.3.2. Die Trögersche Base

Dieses Racemat läßt sich nur chromatographisch in die Antipoden spalten. Die erste Trennung gelang Prelog und Wieland (Lactose, $\bar{A} \approx 5\%$); durch Umkristallisieren und Auslesen konnten reine Enantiomere dargestellt werden ²³⁾.

Literatur: Fp. Racemat: 136-137°C; Fp. Antipoden: 127-128°C;

$[\alpha]_{589}^{20} = 310^\circ$ ($\pm 7^\circ$) (Chloroform, $c = 0,3$). $[\alpha]_{589}^{16} = 279^\circ$ ($\pm 7^\circ$) (n-Hexan, $c = 0,28$).

Gefunden: Fp. Antipoden: 127-128°C (nach einem Durchlauf).

<u>Wellenlänge(nm)</u>	<u>$[\alpha]_{\lambda}^{25}(1)^\circ$</u>	<u>$[\alpha]_{\lambda}^{25}(2)^\circ$</u>
589	290	274
578	296	285
546	354	332
435	687	635
365	1230	1160

1: Chloroform($c = 0,3$), 2: n-Hexan($c = 0,3$).

Chromatogramme und Bedingungen: Seite 69, 85.

Bei Verwendung einer Charge (+)- oder (-)-Träger-Base zeigen die spezifischen Drehungen in n-Hexan die Reinheit der Proben ($\approx 100\%$), die zu niedrigen Werte in Chloroform können nicht erklärt werden.

Die Trögersche Base besitzt große, starre Moleküle, die im Gitter des kristallinen Cellulosetriacetats mehrfach gebunden werden. Nach dem Blockieren der Nischen durch Benzol oder nach dem Umfällen resultiert die entgegengesetzte Spezifität des Sorbens (zuerst (+)).

2.3.3. Ansaverbindungen

1.) 1,5-Dihydroxynaphthalin-decamethylenäther wird an kristalliner Triacetylcellulose schnell eluiert, doch gut aktiviert: Standardsäule, 71-56 μ , Äthanol, 20°C, übliche Bedingungen.

$$V_r = 7, [\alpha]_{435}^{25} = +105^\circ (\text{CHCl}_3, c = 1)$$

Maximal erreichte Drehwerte (Chloroform, $c = 0,5$):

<u>Wellenlänge(nm)</u>	<u>$[\alpha]_{\lambda}^{25}(^{\circ})$</u>
589	94
578	96
546	112
435	227
405	291

2.) Hydrochinon-decamethylenäther

a) 2-Chlor- und 2-Bromhydrochinon-decamethylenäther konnten auch bei -20°C nicht gespalten werden, da erst eine Neuner-Brücke die Rotation des Aromaten verhindert.

b) Die Enantiomeren des 2,5-Dibromhydrochinon-decamethylenäthers sind bei Raumtemperatur sehr stabil; ihre Darstellung aus optisch aktivem 4-Bromgentisinsäure-decamethylenäther durch Curtiusabbau des Säureazids und Diazotieren des entstandenen Amins in Gegenwart von HBr und Kupferpulver wurde von Lüttringhaus beschrieben ⁸⁰⁾.

Literatur: Fp. Racemat: $98,5^{\circ}\text{C}$, Fp. Antipoden: $120,5^{\circ}\text{C}$;

$$[\alpha]_{546}^{18} = 32,1^{\circ} \text{ (Chloroform, } c = 1,5\text{)}.$$

Gefunden: Fp. Antipoden: 132° . Drehwerte (CHCl_3 , $c = 1,5$):

<u>Wellenlänge(nm)</u>	<u>$[\alpha]_{\lambda}^{18}(^{\circ})$</u>	<u>$[\alpha]_{\lambda}^{25}(^{\circ})$</u>
589	29,5	29,1
578	32,4	31,7
546	35,4	35,0
435	57,2	56,1
365	129	126

Chromatogramme und Bedingungen: Seite 60.

Bei dieser Ansaverbindung liegt wahrscheinlich eine Racemform mit Mischkristallnatur vor, so daß der Drehwert des Syntheseprodukts durch Umkristallisieren nicht mehr zu steigern war (vgl. Seite 13/5). Bei der Chromatographie ist das Verhalten im kristallinen Zustand belanglos; die Trennung hängt nur von der Struktur der Antipoden ab.

Die Schmelzpunkte und spezifischen Drehungen der an mikrokristallinem Cellulosetriacetat vollständig trennbaren Enantiomeren liegen um ca. 10% höher als die Literaturwerte.

Zusammenfassung von Abschnitt 2.3.:

Aussagen über Struktur und resultierende Anreicherung (Vorzeichen, Größe) lassen sich kaum treffen; nahezu alle getesteten Racemate wurden aktiviert, gleichgültig, ob ihre Moleküle groß und starr (Trögersche Base), groß und etwas flexibel (Ansaverbindungen, Dimethyldinaphthyl) oder kleiner sind und aromatische Ringe enthalten (Mandelsäure) oder nicht (Alkylcycloalkanone).

Erhebliche Bedeutung besitzen schwer überschaubare sterische Faktoren (z.B. bei 2-Phenylcycloalkanonen, Phenylanisyläthanolen, Mandelsäureestern).

Die chromatographische Wirksamkeit verschiedener Gruppen kann allerdings aus den erhaltenen Daten leicht abgeschätzt werden. Vorteilhaft sind Äther-, (bedingt) Brom-, Carbonyl- und Phenylreste (eventuell ortho-disubstituiert) sowie Ringsysteme (z.B. das Norbornangerüst), im Gegensatz zu Carboxyl-, Amino- und Hydroxylgruppen.

Somit lassen sich gerade wenig-polare Verbindungen aktivieren, die über Diastereomere kaum zu trennen sind (Säuren, Basen und Alkohole können über Salze leicht gespalten werden; vgl. Seite 7).

Wird kristalline Triacetylcellulose in ihrer Wirksamkeit von einem anderen Sorptionsmittel übertroffen?

Wir testeten kurz das Cellulose-tris-phenylcarbamat, das bei der Darstellung in Pyridin/Dimethylformamid (analog⁸¹), 200-facher Ansatz) zwar nicht richtig gelöst, doch stark gequollen wird (vergleichbar mit dem Anlösen des Triacetates durch Chloroform, Seite 69) und daher nur mit dem amorphen (umgefällten) Cellulosetriacetat verglichen werden soll.

Versuche:

Siebfraktionen 90-56 μ , Äthanol (15min 80°C), L = 40cm,
 $\phi_i = 3,1\text{cm}$, 250mg Racemat, 20°C, 300ml/h.

V_r in 25ml Fr., $\bar{A}$ in % oder als $[\bar{\alpha}]_{435}^{25}$ (Chloroform).

<u>Substanz</u>	<u>Carbamat</u>		<u>Acetat</u>	
	V_r	$\bar{A}$	V_r	$\bar{A}$
Trögersche Base	23	+22%	9	+10%
2-Phenylcyclohexanon	17	-26%	10	+45%
Mandelsäure	6	-2,1%	6	+3,6%
Mandelsäureäthylester	10	+1,2°	7	+19,5°
5-Phenylnorbornen	9	-6,6°	6	-15,1°
2-Cyclohexylcycloheptanon	8	+2,2°	4	+4,8°

Trotz größerer Retentionsvolumina werden die Proben an Cellulose-tris-phenylcarbamate geringer aktiviert als am Triacetat (Ausnahme: Träger-Base; an umgefällter Triacetylcellulose treten jedoch ausbeuteverschlechternde Dreifachkurven auf). Beachtenswert ist die umgekehrte Spezifität des Carbamats für Mandelsäure und 2-Phenylcyclohexanon.

Nicht nur die Anordnung der Kettenmoleküle in den Cellulosederivaten beeinflusst die chromatographische Wirksamkeit eines Sorptionsmittels, sondern auch die chemische Struktur der Substituenten.

Kristalline Triacetylcellulose dürfte das am besten geeignete Cellulosederivat für chromatographische Racematspaltungen sein; dieses Sorbens, optimal vorbehandelt, wird (universell gesehen) von keinem anderen übertroffen.

3. Experimenteller Teil

3.1. Die Darstellung der Sorbenzien

I.) Celluloseetriacetat

200g aktiviertes Cellulosepulver (z.B. Schleicher und Schüll Nr. 123 oder 144, Macherey und Nagel MN 100, Avicel^R....), 4 Liter Benzol, 800ml Eisessig, 6ml Perchlorsäure (60%) und 800ml Acetanhydrid werden in dieser Reihenfolge zusammengegeben und bei 35°C (vorteilhaft in einem sicheren Trockenschrank) 3 Tage gerührt. Die durchscheinende Suspension wird dann zentrifugiert oder abgesaugt (Nutsche möglichst groß wählen), der Rückstand in 5L Methanol verteilt. Nach 24h entfernt man das überstehende Lösungsmittel und zentrifugiert (filtriert) erneut. Beim Trocknen entstehen hellbraune, spröde Massen, die sich leicht zerstoßen lassen. Eine Trocknungstemperatur von mehr als 50°C ist zu vermeiden, da sich das Präparat sonst dunkelfärbt (Zersetzung durch Eisessigreste). Acetylgehalt: um 45% CH₃CO-.

Die Acetylierungsdauer bestimmt die Löslichkeit des Produktes in Aceton (zunehmender Abbau). Die Werte von Seite 38 beruhen auf folgender Vorschrift:

100g feinstes Celluloseetriacetat (15min in einer Porzellan-Kugelmühle gemahlen) werden in 1L Aceton 5 Tage gerührt; nach dem Zentrifugieren gießt man die Lösung in 2L Wasser. Das Umlösen der Acetylcellulose in Chloroform ist auf Seite 70 beschrieben.

II.) Cellulose-tris-phenylcarbamat

200g mercerisierte und inkludierte ⁶⁸⁾ Cellulose werden mit 1000g Phenylisocyanat in 5L Pyridin:Dimethylformamid = 1:1 auf 120°C erhitzt (unter Rühren), wobei eine heftige Reaktion einsetzt (Selbsterwärmung auf ca. 160°C). Nach dem Abkühlen versetzt man die entstandene, durchscheinende, zähe Gallerte mit 5L Wasser; es bildet sich ein weißer Brei (zer-rissene Filme), der in Methanol suspendiert und 2 Tage stehengelassen wird. Anschließend nimmt man erneut in DMF auf (5L) und trocknet bei 120°C ein. Ausbeute: fast quantitativ.

Analyse: Eine Probe wird dreimal in Äthanol ausgekocht und dann getrocknet.

Berechnet (Tris-phenylcarbamat): C: 62,5%, H: 4,8%, N: 8,1%.

Gefunden: C: 63,6%, H: 4,6%, N: 8,6%.

Es liegt daher ein Cellulose-tris-phenylcarbamat vor (bei Polymeren werden die Analysengenauigkeiten für monomere Substanzen nicht erreicht).

III.) Das Zerkleinern der Cellulosederivate

Die in Form von spröden (Acetat) bzw. zähen (Carbamat) Klumpen anfallenden Produkte müssen auf eine für die Chromatographie geeignete Korngröße (vgl. Abschnitt 2.2.3.1.) gebracht werden. Elektrische Kaffeemühlen empfehlen sich besonders zum Zerkleinern der Präparate; bei Verwendung von Kugelmühlen ist der Abrieb (kleiner 56μ) zu hoch.

Zum Aussieben der gewünschten Fraktion keine Schüttelmaschinen benutzen, da sich die Pulver rasch elektrostatisch aufladen. Das manuelle Bewegen der Siebe (langsam, kreisförmig) bringt insgesamt eine Zeiteinsparung.

3.2 Das Säulenfüllen

I.) Partikel kleiner 56μ

40g (Trockengewicht) des mehrmals in Äthanol ausgekochten Pulvers werden in 60ml Fließmittel verteilt und in einem Zug in die Säule gegossen ($\phi_1 = 2,2\text{cm}$). Die Suspension wird vorsichtig mit weiterem Fließmittel bis zum Säulenkopf überschichtet. Die Verdichtung der Füllung erfolgt mit einer Quetschpumpe, Strömung: 100-200ml/h (Säule dabei leicht mit einem Korkring klopfen). Die fertige Packung kann mit Seesand oder einem zurechtgeschnittenen Stück Filterpapier abgedeckt werden; den Säulenfuß stets mit Glaswolle und einer Schicht Sand (2cm) abdichten.

Da in einigen Fällen eine Temperaturvariation empfehlenswert ist, muß die Trennsäule einen Thermostatisiermantel besitzen. Zum Anschluß der Quetschpumpe oder des Tropftrichters dient ein Glasschliff NS 29. Der Silikon- oder Teflon-

schlauch, der zum Weiterleiten des Eluats verwendet wird (Durchmesser klein wählen), ist am Säulenfuß an einem Glasrohr ($\varnothing_1$ etwa 5mm; L = 5-20cm, je nach Säule und Temperatur) befestigt, das seinerseits durch ein Stück Silikon-schlauch mit dem Glas- oder Teflonhahn der Säule verbunden ist. Das Röhrchen kann mit Fließmittel gefüllt werden; es dient als Reservoir, falls während der Analyse Gasblasen austreten. Diese gelangen dann erst nach dem Verdrängen der Flüssigkeit in die Küvetten.

II.) Größere Siebfraktionen

Für die Trennsäulen gelten die eben beschriebenen Forderungen. 150g trockenes Pulver werden in 700ml Äthanol suspendiert, 15min im Wasserbad (80°C) unter gelegentlichem Umschütteln erwärmt und abkühlen lassen. Die Suspension durch Abpipettieren des überstehenden Alkohols auf ca. 350ml Gesamtvolumen bringen (: eine zu dünne Suspension entmischt sich in der Säule nach den Korngrößen, eine zu dicke reißt beim Eingießen leicht Luftblasen mit) , gut durchschütteln und in einem Zug in die Säule fließen lassen, nachdem zur Entfernung restlicher Luft etwa 30sec evakuiert wurde (Wasserstrahlvakuum). Dann setzt man den Tropftrichter auf und verdichtet die Füllung unter Strömung; die Säule dabei mit einem Korkring klopfen und mehrmals ruckartig um die Längsachse drehen. 47cm der eingegossenen Suspension ergeben 38cm Betthöhe. Soll die Säule vollständig gefüllt werden, setzt man ein Verlängerungsrohr auf. Nach einigen Tagen Klopfen und Drehen wiederholen.

Nach einem Fließmittelaustausch in der Nutsche wird analog verfahren (Evakuieren ist wichtig!). Füllungen bei Wasser-Alkohol-Gemischen behutsam verdichten, keinen Druck anwenden.

3.3. Der Versuchsaufbau

Die Strömungsgeschwindigkeit des Elutionsmittels kann folgendermaßen reguliert werden:

- 1.) Bei gröberen Partikeln ($90-56\mu$) läßt sich durch Hochhängen der Säule eine Strömung bis zu 200ml/h erreichen; entscheidend ist die Differenz Höhe der Flüssigkeitssäule - Höhe des Ausflusses. Das Reservoir am Säulenfuß muß gefüllt sein, da sonst sofort Luft- und Dampfbläschen in die Küvetten gelangen.
- 2.) In den meisten Fällen lassen sich ausreichende Fließgeschwindigkeiten durch Gasdruck (aus einer Stickstoffbombe) auf das Vorratsgefäß einstellen (300-400ml/h bei ca. 0,3atü, 20°C).
- 3.) Bei feinen Teilchen (kleiner 56μ) empfehlen sich Schlauch-Quetschpumpen, die (gefahrlos) bis zu 2atü erzielen; da nur das Eluens komprimiert wird, entfallen Störungen durch entweichende Gasblasen.

Die Dosierung der Proben (ca. 250mg in 3-5ml) erfolgt mit einer Pipette. Zuerst entfernt man überstehendes Fließmittel und tropft dann die Lösung in die Mitte des abdeckenden Filterpapieres; ein Aufwirbeln des Sorbens ist unbedingt zu vermeiden. Das Einziehen des Sorbats in die Füllung kann bei dichten Packungen durch Gasdruck beschleunigt werden (v.a., wenn warme, fast gesättigte Lösungen aufgegeben sind).

Das Eluat wird nach dem Verlassen der Trennsäule durch ein Polarimeter (Perkin-Elmer 141, mit Monochromator) und einen UV-Detektor (LKB Uvicord II, auf $\lambda = 254\text{nm}$ eingestellt), dann in einen Fraktionssammler (LKB Radi-Rac, Typ 3402 B) geleitet. Die Registrierung der Chromatogramme erfolgt durch übliche Kompensationsschreiber.

Die Mikro-Küvette des Polarimeters ist für den Durchflußbetrieb nicht konstruiert; Luftblasen müssen daher durch Schütteln entfernt werden. Die einzustellende Wellenlänge ist möglichst klein zu wählen, jedoch darf keine Absorption

auftreten (optimal: 365nm, da sehr intensiv). Zu große Ausschläge können durch Zurückschalten der Empfindlichkeit linear reduziert werden (bei richtig justiertem Gerät). Bei Racematspaltungen mit geringen Aktivierungserwartungen (z.B. reine Kohlenwasserstoffe) empfiehlt sich die Wellenlänge 313nm. Zur Aufnahme der Drehwinkelchromatogramme Nulllinie des Schreibers auf die Papiermitte einstellen, da meist Doppelkurven registriert werden (vgl. Seite 22).

Die Meß-Empfindlichkeit des UV-Detektors für schwach absorbierende Verbindungen (bei 254nm z.B. Ketone, Olefine) läßt sich nach Betriebsanleitung 1x dehnen.

Der Siphon-Einsatz des Fraktionssammlers ist nach der Größe der Trennsäule zu wählen: 25ml Volumen bei 3,1cm ϕ_1 , 10ml bei 2,2cm ϕ_1 . Beim Fraktionswechsel wird ein Quecksilber-Kippkontakt geschlossen. Dies ermöglicht die Markierung der Wechsel in den beiden Chromatogrammen durch folgende Schaltung:

Nach dem Schließen des Kontaktes zieht ein Batteriestrom ein Doppelrelais an; dadurch werden über variable Widerstände Kurzschluß-Impulse auf die beiden Schreiber gegeben; die Höhen der Ausschläge sind so einzustellen, daß sie deutlich über den Störsignalen von Luftblasen liegen.

Durch Abzählen der "Fraktionsstriche" erhält man sofort Auskunft über Elutionsvolumen und Strömungsgeschwindigkeit (bei bekanntem Papiervorschub).

An dieser Stelle möchte ich meinen Kollegen, den Herren Baudisch, Heid, Gert Hofmann, Knobloch, Langer, Dr. Lechten, Schaper und Dr. Schmid für die Überlassung bzw. Ausgabe von Präparaten und Acetylbestimmungen (nach ⁸²) sowie für ihre fruchtbare Kritik danken. Herrn Dr. Haag bin ich für die Deutung von Spektren sehr verbunden.

4. Literaturverzeichnis

- 1) O. Burchardt, Angew. Chem. 86, 222 (1974)
- 2) M. Eigen, Naturwiss. 58, 465 (1971)
- 3) E.L. Eliel, Stereochemie der Kohlenstoffverbindungen, Verlag Chemie, Weinheim/Bergstr. 1966, Seite 1
- 4) C. Gerthsen, Physik, Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York 1966 (9. Auflage), Seite 367
- 5) R. Brdička, Grundlagen der physikalischen Chemie, VEB Deutscher Verlag der Wissenschaften, Berlin 1967 (6. Auflage), Seite 932
- 6) E. Fischer, Ber. dtsch. chem. Ges. 24, 2683 (1891)
- 7) R.S. Cahn, C.K. Ingold u. V. Prelog, Angew. Chem. 78, 413 (1966)
- 8) Übersicht: siehe 3), Seite 10 ff.
- 9) siehe 3), Seite 490
- 10) E.L. Eliel u. J.P. Freeman, J. Amer. Chem. Soc. 74, 923 (1952)
- 11) H. Mauser, Chem. Ber. 90, 299 (1957)
- 12) E. Fischer u. W. Schoeller, Liebigs Ann. Chem. 357, 1 (1907)
- 13) A.F. Casy u. A.P. Parulkar, J. Med. Chem. 12, 178 (1969)
- 14) siehe 3), Seite 56 ff.
- 15) A.C. Cope, C.R. Ganellin u. H.W. Johnson, J. Amer. Chem. Soc. 84, 3191 (1962)
- 16) M.S. Newman, W.B. Lutz u. D. Lednicer, J. Amer. Chem. Soc. 77, 3420 (1955)
- 17) B. Helferich u. W. Portz, Chem. Ber. 86, 1034 (1953)
- 18) K. Freudenberg u. F. Cramer, Chem. Ber. 83, 296 (1950)
- 19) F. Cramer u. W. Dietsche, Chem. Ber. 92, 378 (1959)

- 20) W. Bradley u. G.C. Easty, J. Chem. Soc. (London) 1951, 499
- 21) C.E. Dalgliesh, J. Chem. Soc. (London) 1952, 3940
- 22) R. Kaiser, Chromatographie in der Gasphase, 1. Teil, Bibliographisches Institut, Mannheim 1965, Seite 49 ff.
- 23) V. Prelog u. P. Wieland, Helv. Chim. Acta 27, 1127 (1944)
- 24) siehe 3, Seite 99
- 25) G. Reißweber, Diplomarbeit, Erlangen 1975
- 26) R. Sobotta, Diplomarbeit, Erlangen 1975
- 27) Übersicht: S.V. Rogozhin u. V.A. Davankov, Russian Chem. Rev. 37, 565 (1968)
- 28) R. Willstätter, Ber. dtsch. chem. Ges. 37, 3758 (1904)
- 29) R.W. Brode u. R. Adams, J. Amer. Chem. Soc. 48, 2202 (1926)
- 30) M. Tomita u. M. Sugamoto, Chem. Abstr. 55, 26005c (1961)
- 31) W. Mayer u. F. Merger, Liebigs Ann. Chem. 644, 65 (1961)
- 32) G.M. Henderson u. H.G. Rule, J. Chem. Soc. (London) 1939, 1568
- 33) H. Krebs u. R. Rasche, Z. anorg. allg. Chem. 276, 236 (1954)
- 34) H. Krebs, J.A. Wagner u. J. Diewald, Chem. Ber. 89, 1875 (1956)
- 35) F.H. Dickey, J. Phys. Chem. 59, 695 (1955)
- 36) H. Erlenmeyer u. H. Bartels, Helv. Chim. Acta 47, 46 (1964)
- 37) R. Curti u. U. Colombo, J. Amer. Chem. Soc. 74, 3961 (1952)
- 38) L.H. Klemm u. D. Reed, J. Chromatog. 3, 364 (1960)

- 39) G. Karagounis, E. Charbonnier u. E. Flöss,
J. Chromatog. 2, 84 (1959)
- 40) N. Grubhofer u. L. Schleith, Naturwiss. 40, 508 (1953)
- 41) G. Blaschke u. F. Donow, Chem. Ber. 108, 1188 (1975)
- 42) G. Blaschke u. F. Donow, Chem. Ber. 108, 2792 (1975)
- 43) G. Eyring, Dissertation, Freiburg 1960
- 44) U. Hess, Dissertation, Freiburg 1965
- 45) H.J. Rosenbaum, Dissertation, Freiburg 1968
- 46) L.E. Rhuland, E. Work, R.F. Denman u. D.S. Hoare,
J. Amer. Chem. Soc. 77, 4844 (1955)
- 47) H. Krebs u. W. Schumacher, Chem. Ber. 99, 1341 (1966)
- 48) siehe 45), Seite 35
- 49) R.O. Herzog, J. Phys. Chem. 30, 466 (1926)
- 50) H. Beyer, Lehrbuch der organischen Chemie, S. Hirzel
Verlag, Leipzig 1963 (10. Auflage), Seite 312 ff.
- 51) K.H. Meyer u. L. Misch, Helv. Chim. Acta 20, 232 (1937)
- 52) O. Kratky in: Chemische Textilfasern, Filme und Folien,
Herausgeber R. Pummerer, F. Enke Verlag, Stuttgart
1953, Seite 32
- 53) W. Kast, Melliand Textilber. 31, 83 (1950)
- 54) K.H. Meyer, Ber. dtsh. chem. Ges. 70, 266 (1937)
- 55) O. Kratky u. H. Mark, Z. physik. Chem. (B)
36, 129 (1937)
- 56) H. Staudinger u. R. Signer, Angew. Chem. 42, 67 (1929)
- 57) Marburger Tagung, Kolloid-Z. 1951, 120
- 58) V.J. Frilette, J. Hanle u. H. Mark,
J. Amer. Chem. Soc. 70, 1107 (1948)
- 59) K. Hess, H. Kiessig u. J. Gundermann,
Z. physik. Chem. (B) 49, 64 (1941)

- 60) P.H. Hermans, J. Chim. Phys. 44, 135 (1947)
- 61) H. Staudinger, Makromol. Chem. 9, 148 (1953)
- 62) Houben-Weyl, Methoden der organischen Chemie, Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1963, Band XIV/2 (Makromolekulare Stoffe, 2. Teil), Seite 875
- 63) siehe 52), Seite 62 ff.
- 64) H. Römpp, Chemielexikon, Franckh'sche Verlagshandlung, Stuttgart 1966 (6. Auflage)
- 65) W. Hoffmeister, Landwirtsch. Jahrbuch 17, 240 (1888)
- 66) siehe 62), Seite 865
- 67) P.H. Hermans, Makromol. Chem. 6, 25 (1951)
- 68) siehe 62), Seite 864
- 69) H. Staudinger u. G. Daumiller, Liebigs Ann. Chem. 529, 219 (1937)
- 70) siehe 62), Seite 874
- 71) K. Hess, Angew. Chem. 37, 999 (1924)
- 72) H. Staudinger, Angew. Chem. 64, 149 (1952)
- 73) K. Hess u. G. Schultze, Liebigs Ann. Chem. 455, 81 (1927)
- 74) siehe 22), Seite 54
- 75) Übersicht: W. Klyne and J. Buckingham, Atlas of Stereochemistry, Chapman and Hall, London 1974
- 76) M.-J. Arienne, C. Ouannes u. J. Jacques, Bull. Soc. Chim. France 1967, 613
- 77) G. Berti, B. Macchia, F. Macchia u. L. Monti, J. Chem. Soc. (London) 1971, 3371
- 78) H.T. Thomas u. K. Mislow, J. Amer. Chem. Soc. 92, 6292 (1970)

- 79) K. Alder u. H.F. Rickert, Ber. dtsh. chem. Ges.
71, 379 (1938)
- 80) A. Lüttringhaus u. H. Gralheer, Liebigs Ann. Chem.
557, 108 (1947)
- 81) W. Burchard u. E. Husemann, Makromol. Chem.
44/46, 358 (1961)
- 82) R. Kuhn u. H. Roth, Ber. dtsh. chem. Ges.
66, 1274 (1933)

5. Symbolverzeichnis

- α = Drehwinkel (in Grad ($^{\circ}$))
- $[\alpha]$ = spezifische Drehung (in $^{\circ}$)
- $[\bar{\alpha}]$ = mittlere spezifische Drehung (in $^{\circ}$)
- Tr. = Transmission (in %)
- V_r = Retentionsvolumen (in 25ml Einheiten)
- $\bar{A}$ = mittlere Anreicherung (in % oder in $^{\circ}$)
- HTS = Trennstufenhöhe (in mm)
- 1μ = $10^{-6}m$
- $\emptyset_i$ = Innendurchmesser der Säule

Lebenslauf

Rainer Hagel,
geboren am 13. März 1947 in Lichtenfels als Sohn der Ehe-
leute Heinrich und Hilde Hagel, geb. Tremel.

Schulbildung:

1953 - 1957	Volksschule Lichtenfels
1957 - 1966	Meranier-Gymnasium Lichtenfels

Studium:

Mit dem Wintersemester 1966/1967 Beginn des Chemiestudiums
an der Universität Erlangen.

1969	Vorexamen
1971	Hauptexamen

Von Februar bis Dezember 1971 praktische Ausführung der
Diplomarbeit unter der Leitung von Herrn Professor Dr.
G. Hesse am hiesigen Institut für Organische Chemie; seit-
dem Anfertigung der Dissertation. Ab Januar 1972 Betreu-
ung der Gaschromatographie-Abteilung.

Offsetdruck-Fotodruck

J. Hogl, 8520 Erlangen, Hauptstr. 109 (Nähe Martin-Luther-Platz) Tel. 22990